

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Prüfung der Wirksamkeit eines *Lawsonia intracellularis*
Lebendimpfstoffs (Enterisol® Ileitis) in einer vor dem Aufbau des
Impfschutzes teilweise infizierten Tiergruppe

von Martin Josef Kreutzmann
aus Lohne (Oldbg)

München 2016

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.- Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch
Dr. Susanne Zöls

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.- Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Korreferent: Univ.- Prof. Dr. Gerd Sutter

Tag der Promotion: 06.02.2016

Meiner Frau Nina

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	14
II.	LITERATURÜBERSICHT	16
1.	Porzine proliferative Enteropathie	16
1.1.	Erreger	17
1.1.1.	Morphologie / Eigenschaften	17
1.1.2.	Taxonomische Einordnung	17
1.1.3.	Überlebenszeit in der Umgebung	17
1.1.4.	Vermehrung des Erregers in vitro	18
1.1.5.	Wirtsspezies	18
1.2.	Pathogenese	19
1.2.1.	Übertragung	19
1.2.2.	Einfluss der Infektionsdosis	19
1.2.3.	Inkubationszeit	19
1.2.4.	Eintritt in die Darmepithelzellen	19
1.2.5.	Merkmale veränderter Zellen / Lokalisation von <i>Lawsonia intracellularis</i> in veränderten Zellen	20
1.2.6.	Freisetzung aus den Wirtszellen / Infektion weiterer Zellen	20
1.2.7.	Ausscheidung des Erregers	21
1.2.7.1.	Beginn der Ausscheidung	21
1.2.7.2.	Dauer der Ausscheidung	21
1.2.8.	Vorkommen des Erregers außerhalb des Intestinaltrakts	21
1.2.9.	Notwendige Faktoren für eine Krankheitsentstehung	22
1.2.10.	Besonderheiten bei an porziner hämorrhagischer Enteropathie erkrankten Tieren	22
1.2.11.	Interaktionen mit anderen Erregern	23
1.2.12.	Heilungsprozess	23
1.3.	Immunantwort	23
1.3.1.	Lokale Immunantwort im Darm	23
1.3.2.	Antikörperbildung im Serum	24
1.3.2.1.	Zeitraum von der Infektion bis zur Antikörperbildung	24
1.3.2.2.	Einfluss des Einsatzes antibiotischer Substanzen auf die Serokonversion	25
1.3.2.3.	Bedeutung der humoralen Antikörper	25

1.3.2.4.	Maternale Antikörper	25
1.3.3.	Ausbildung der zellulären Immunität.....	26
1.3.4.	Schutz vor Erkrankung nach vorangegangener Infektion	26
1.4.	Epidemiologie	26
1.4.1.	Prävalenz in Europa	26
1.4.2.	Prävalenz in Nordamerika	27
1.4.3.	Prävalenz in Asien und Australien	28
1.4.4.	Einflussfaktoren	28
1.5.	Klinik der porzinen proliferativen Enteropathie	29
1.5.1.	Chronische porzine proliferative Enteropathie / porzine intestinale Adenomatose	29
1.5.2.	Akute porzine proliferative Enteropathie / akute Ileitis / porzine hämorrhagische Enteropathie	30
1.5.3.	Subklinische Infektion.....	30
1.5.4.	Ökonomische Bedeutung / Verschlechterung der Leistungsparameter	31
1.6.	Diagnostik	31
1.6.1.	Pathomorphologische Untersuchung.....	31
1.6.1.1.	Chronische porzine proliferative Enteropathie / chronische Ileitis / porzine intestinale Adenomatose	31
1.6.1.2.	Akute porzine proliferative Enteropathie / akute Ileitis / Porzine hämorrhagische Enteropathie	31
1.6.1.3.	Nekrotisierende Enteritis	32
1.6.1.4.	Regionale Ileitis.....	32
1.6.1.5.	Befundung von Organen am Schlachtband	32
1.6.2.	Pathohistologische Untersuchung	32
1.6.2.1.	Porzine hämorrhagische Enteropathie	33
1.6.2.2.	Nekrotisierende Enteritis	33
1.6.2.3.	Regionale Ileitis.....	33
1.6.3.	Spezifische Nachweismethoden im Gewebe.....	34
1.6.3.1.	Warthin-Starry Silberfärbung.....	34
1.6.3.2.	Immunhistochemie / Immunofluoreszenztest	34
1.6.3.3.	In-situ-Hybridisierung	34
1.6.3.4.	Polymerase chain reaction.....	34
1.6.4.	Erregernachweise im Kot	35
1.6.4.1.	Immunfluoreszenztest / Immunoperoxidasefärbung	35

1.6.4.2.	DotBlot Hybridisierung	35
1.6.4.3.	Polymerase chain reaction.....	35
1.6.5.	Serologie.....	37
1.6.5.1.	Immunofluorescenceantibodytest.....	37
1.6.5.2.	Immunoperoxidase monolayer assay	37
1.6.5.3.	Enzyme linked immunosorbent assay	37
1.6.6.	Vergleich der diagnostischen Sensitivität unterschiedlicher Testverfahren	37
1.6.6.1.	Serologie.....	37
1.6.6.2.	Detektion im Kot.....	38
1.6.6.3.	Detektion im Gewebe.....	39
1.6.6.4.	Einfluss antibiotischer Behandlungen	40
1.7.	Prophylaxe und Therapie der porzinen proliferativen Enteropathie	40
1.7.1.	Orale Vakzination mit einer <i>L. intracellularis</i> Lebendvakzine (Enterisol® Ileitis)	40
1.7.1.1.	Infektionsversuche	40
1.7.1.2.	Serokonversion nach Impfung	41
1.7.1.3.	Ausscheidung des Impferregers	42
1.7.1.4.	Ergebnisse von Feldstudien.....	42
1.7.1.4.1.	Australien	42
1.7.1.4.2.	Dänemark	42
1.7.1.4.3.	Deutschland.....	42
1.7.1.4.4.	Schweiz	43
1.7.1.4.5.	Ungarn.....	44
1.7.2.	Desinfektionsmittel	44
1.7.3.	Antibiotische Prophylaxe, Metaphylaxe und Therapie der porzinen proliferativen Enteropathie.....	44
1.7.3.1.	Minimale Hemmkonzentrationen verschiedener Antibiotika gegen	
	<i>L. intracellularis</i>	44
1.7.3.2.	Studien zum Einsatz von Antibiotika.....	45
1.7.3.2.1.	Tiamulin	45
1.7.3.2.2.	Tylosin.....	46
1.7.3.2.3.	Lincomycin / Lincomycin-Spectinomycin.....	46
1.7.3.2.4.	Tetracycline	47

III.	MATERIAL UND METHODEN	48
1.	Bestand	48
1.1.	Versuchshypothese	48
1.2.	Versuchszeitraum	48
1.3.	Versuchsbetrieb	48
1.4.	Tierversuchsanzeige	48
1.5.	Vorabuntersuchungen zur Betriebsauswahl	49
2.	Versuchsablauf	49
2.1.	Versuchsdurchgänge und Tierzahl	49
2.1.1.	Aufstallung der Versuchstiere	50
2.1.2.	Applikation des Impfstoffs gegen <i>L. intracellularis</i>	50
3.	Datenerhebung	51
3.1.	Schlachtkörperklassifikation	51
3.2.	Gewichte.....	51
3.3.	Blutproben / Serologie	52
3.4.	Kotproben.....	52
3.4.1.	Quantitative rtPCR zur Detektion von <i>L. intracellularis</i>	53
3.4.2.	Nachuntersuchung mit zweiter quantitativer PCR auf <i>L. intracellularis</i> ...	54
3.5.	Statistische Auswertung	54
IV.	ERGEBNISSE	55
1.	Voruntersuchung zur Betriebsauswahl.....	55
1.1.	Antikörper gegen <i>L. intracellularis</i>	55
1.2.	Sonstige Untersuchungen.....	55
2.	Serologie	56
2.1.	Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen	56
2.2.	Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen.....	58
3.	Erregernachweise im Kot	59
3.1.	Nachweis von <i>Lawsonia intracellularis</i> mittels PCR	59
3.1.1.	Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen	59
3.1.2.	Vergleich zwischen verschiedenen quantitativen PCR Methoden.....	61
3.2.	Kultureller Nachweis von <i>Brachyspira spp.</i> und <i>Salmonella spp.</i>	63
3.2.1.	Versuchsdurchgang 1	63
3.2.2.	Versuchsdurchgang 2	63

4.	Gewichtszunahmen	64
4.1.	Gewichtszunahme seit Versuchsbeginn bzw. Gesamtgewichtszunahme ..	64
4.2.	Gewichtszunahme in den einzelnen Versuchsabschnitten	66
4.3.	Vergleich zwischen den Durchgängen	67
5.	Schlachtparameter	67
5.1.	Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen	68
5.1.1.	Muskelfleischanteil	68
5.1.2.	Speckmaß	68
5.1.3.	Fleischmaß	68
5.2.	Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen	69
6.	Sektionsergebnisse und Krankheitsausbruch.....	70
V.	DISKUSSION	71
1.	Serologie	71
2.	Erregernachweis im Kot	73
2.1.	Infektionsverlauf	73
2.2.	Ausgeschiedene Erregermenge	74
3.	Gewichtszunahme.....	75
3.1.	Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen	75
3.2.	Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen	77
4.	Schlachtparameter	78
4.1.	Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen	78
4.1.1.	Speckmaß	78
4.1.2.	Fleischmaß	78
4.1.3.	Muskelfleischanteil	78
4.2.	Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen	79
VI.	FAZIT.....	80
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	81
VIII.	SUMMARY.....	83
IX.	TABELLENVERZEICHNIS	85
X.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	87

XI.	LITERATURVERZEICHNIS	88
XII.	DANKSAGUNG	104

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

bp	Basenpaare	rtPCR	real time PCR
DG	Durchgang	WS-Färbung	Warthin-Starry Färbung
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay		
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin Färbung		
IgA	Immunglobulin A		
IgG	Immunglobulin G		
IgM	Immunglobulin M		
IFA	immunofluorescence assay		
IFAT	Immunofluorescence antibodytest		
IFT	Immunfluoreszenztest		
IHC	Immunhistochemie		
IPMA	immunoperoxidase monolayer assay		
IPX	Immunoperoxidasefärbung		
ISH	In-situ-Hybridisierung		
MHK	minimale Hemmkonzentration		
mPCR	multiplex PCR		
nPCR	nested PCR		
NE	nekrotisierende Enteritis		
PCR	polymerase chain reaction		
PHE	porzine hämorrhagische Enteropathie		
PIA	porzine intestinale Adenomatose		
PCV2	porzines Circovirus Typ 2		
PPE	porzine proliferative Enteropathie		
PI-Wert	prozentualer Inhibitionswert		
PRRS	porzines reproduktives und respiratorisches Syndrom		
PRRSV	porzines reproduktives und respiratorisches Syndrom Virus		
qPCR	quantitative PCR		
RI	regionale Ileitis		
rDNA	ribosomale DNA		

I. EINLEITUNG

Infektionen mit *Lawsonia intracellularis*, dem Erreger der porzinen proliferativen Enteropathie (PPE), welche auch als Ileitis bezeichnet wird, stellen eine der ökonomisch bedeutsamsten Erkrankungen in der Schweineproduktion dar (McORIST & GEBHART, 2012). Epidemiologische Studien zeigen eine sehr hohe Verbreitung der Erkrankung, sowohl in Deutschland als auch weltweit (STEGE et al., 2000; CHOUEY et al., 2003; WENDT et al., 2006; ARMBRUSTER et al., 2007; STEINHEUER et al., 2007). Insbesondere ist beachtenswert, dass die Erkrankung auch ohne sichtbare klinische Symptome, das heißt subklinisch, verlaufen kann, wobei sie jedoch trotzdem erhebliche ökonomische Einbußen verursacht (McORIST & SMITS, 2007). Lange Zeit war die antibiotische Behandlung der betroffenen Schweinebestände die einzige zur Verfügung stehende Option. Mittlerweile ist jedoch seit vielen Jahren ein Lebendimpfstoff gegen den Erreger in Deutschland zugelassen. Üblicherweise wird der Impfstoff bereits zu einem so frühen Zeitpunkt verabreicht, dass der Impfschutz beim Eintreten der Feldinfektion bereits ausgebildet ist. Dies bedeutet jedoch, dass die Impfung unter Umständen bereits im Saugferkelalter durchgeführt werden muss, wo sie mittels einer Drenchpistole individuell an das Tier verabreicht werden muss, wohingegen im Flatdeck die Möglichkeit einer Applikation über das Trinkwasser besteht. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war somit zu prüfen, ob eine Impfung auch dann noch einen deutlichen Erfolg in Bezug auf Leistungsparameter – hier Tageszunahmen – erzielt, wenn bereits ein Teil der Tiergruppe vor dem Aufbau der Immunität infiziert wird. Gleichzeitig sollte geprüft werden, ob die Impfung mit dem *L. intracellularis* Lebendimpfstoff einen Einfluss auf wichtige Schlachtparameter (Speckmaß, Fleischmaß, Muskelfleischanteil) besitzt, da Berichte aus der Praxis den Schluss nahelegen, dass hier vorteilhafte Effekte zu erzielen sind. Schließlich sollte detailliert der Infektionsverlauf unter Feldbedingungen insbesondere in Hinsicht auf die ausgeschiedenen Erregermengen zu unterschiedlichen Zeitpunkten beobachtet werden. Hierfür wurden bei einem Teil der Tiergruppe Kotproben entnommen und mittels quantitativer polymerase chain reaction (qPCR) untersucht, zudem wurden Blutproben entnommen und auf Antikörper gegen den Erreger untersucht. Es wurde hierfür ein Bestand ausgewählt, bei welchem die Infektion bei ca. 10-

30% der Tiere bereits im Flatdeck erfolgte und bei dem eine Nachverfolgbarkeit der Tiere bis zur Schlachtung gegeben war. Es wurden in zwei Abferkelgruppen jeweils 50% der Tiere geimpft, die anderen 50% fungierten als ungeimpfte Kontrollgruppe.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Porzine proliferative Enteropathie

BIESTER und SCHWARTE (1931) beschreiben bei Schweinen mit infektiöser Enteritis eine adenomartig verdickte Schleimhaut in Ileum und oberen Dickdarmabschnitten, welche mikroskopisch ein mehrreihiges, aus unreifen Zellen bestehendes Epithel, das frei von Becherzellen ist, aufweist. ROWLAND et al. (1973) weisen im Folgenden mittels Elektronenmikroskopie in den unreifen Epithelzellen von Schweinen mit adenomatös veränderter Darmschleimhaut ein unregelmäßig gekrümmtes Bakterium nach. CHANG et al. (1984) finden im Kryptenepithel von an proliferativer Enteropathie erkrankten Schweinen mit Hilfe spezifischer fluoreszierender Antikörper *Campylobacter hyointestinalis* und *Campylobacter mucosalis subsp. sputorum* und vermuten einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *C. hyointestinalis* und der Ausbildung von Läsionen einer proliferativen Enteropathie. McORIST et al. (1989a) vergleichen mit Hilfe einer Gelelektrophorese Proteinprofile verschiedener *Campylobacter* spp. sowie eines als *Campylobacter like organism* bezeichneten Bakteriums, dabei zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Isolaten. Im Weiteren ermitteln auch GEBHART et al. (1991) mittels einer spezifischen DNA Sonde, dass ein bisher unbekannter Organismus in den Darmzellen von an porziner proliferativer Enteropathie erkrankten Schweinen vorkommt und dieser als *Campylobacter like organism* bezeichnete Erreger keinem bekannten *Campylobacter*-Isolat beim Schwein entspricht. JONES et al. (1993b) finden eine hochgradig signifikante Assoziation zwischen dem mikroskopischen Nachweis von intrazellulären Bakterien im apikalen Zytoplasma von Enterozyten und dem Nachweis des zu dieser Zeit als *Ileal Symbiont intracellularis* bezeichneten Erregers im Kot. Die Anzucht dieses Erregers in einer Zellkultur aus Rattenenterozyten wird im Weiteren erstmals von LAWSON et al. (1993) beschrieben. Mit Hilfe von aus einer Zellkultur gewonnenen Inokula des Erregers können McORIST et al. (1993) bei Schweinen mikroskopische Läsionen im Sinne einer porzinen proliferativen Enteropathie hervorrufen und somit die Koch'schen Postulate erfüllen.

1.1. Erreger

1.1.1. Morphologie / Eigenschaften

Lawsonia intracellularis (*L. intracellularis*) ist ein gramnegatives Bakterium, welches verschiedenartig gekrümmt oder als gerades Stäbchen vorkommt (McORIST et al., 1995c). Das Bakterium weist eine trilaminare äußere Zellmembran auf (LOMAX & GLOCK, 1982; McORIST et al., 1995b). Bei intrazellulär vorkommenden *L. intracellularis* finden sich keine Flagellen (McORIST et al., 1989b; McORIST et al., 1995b), in bestimmten Zellkulturen zeigt das Bakterium jedoch eine Eigenbeweglichkeit (McORIST & GEBHART, 2012). VANNUCCI et al. (2012) beschreiben, dass es bei gleichem Genotyp Unterschiede in der Genexpression zwischen pathogenen und apathogenen Erregern gibt.

1.1.2. Taxonomische Einordnung

GEBHART et al. (1993) vergleichen die 16S ribosomale RNA (rRNA) von *L. intracellularis* und 400 anderen Bakterienarten und zeigen, dass die größte Übereinstimmung (91%) mit *Desulfuvibrio desulfuricans* besteht. Aufgrund der abweichenden Eigenschaften im Vergleich zu *D. desulfuricans* wird das Bakterium von McORIST et al. (1995c) in das neue Genus *Lawsonia* innerhalb der Familie Desulfovibrionaceae eingeordnet.

1.1.3. Überlebenszeit in der Umgebung

COLLINS et al. (2000) vergleichen die Überlebenszeit von zwei *L. intracellularis* Stämmen in Zellkulturmedium bei unterschiedlichen Temperaturen. Dabei zeigt sich, dass bei 37°C nach drei Stunden, bei 20°C nach einem Tag und bei 5°C nach sechs Tagen noch lebende Erreger vorhanden sind. Im Weiteren wird versucht, Tiere mit unterschiedlich lang gelagertem *L. intracellularis* haltigem Kot zu infizieren (COLLINS et al., 2000). Eine Infektion mit zwei Wochen altem Kot ist dabei möglich, mit fünf Wochen altem Kot jedoch nicht (COLLINS et al., 2000). Bei den mit frischem Kot infizierten Tieren zeigen mehr Tiere Durchfall als bei den mit einer Woche altem Kot infizierten, bei zwei Wochen altem Kot tritt keine klinische Symptomatik mehr auf (COLLINS et al., 2000). In einer Studie von JENSEN et al. (2010) weisen die Autoren in bei 4°C gelagerten Darmabschnitten nach zwölf Wochen noch immer lebensfähige Bakterien nach.

1.1.4. Vermehrung des Erregers in vitro

Die Anzucht des Erregers in einer Zellkultur aus Rattenenterozyten wird erstmals von LAWSON et al. (1993) beschrieben, eine Vermehrung des Erregers in murinen McCoy Zellen (KROLL et al., 2005) oder Henle Darmepithelzellen (JOENS et al., 1997) ist ebenfalls möglich. Auch die Vermehrung in Jejunal-epithelzellen aus Schweinen ist beschrieben (McORIST et al., 1995b). Eine Vermehrung des Erregers auf herkömmlichen Nährböden ist nicht möglich (GEBHART et al., 1993; JOENS et al., 1997).

1.1.5. Wirtsspezies

Neben dem Schwein werden Infektionen bei Weißwedelhirschen (DROLET et al., 1996), Hirschen (COOPER et al., 1997b; COOPER et al., 1997a) Straußen (COOPER et al., 1997b; COOPER et al., 1997a), Pferden (WILLIAMS et al., 1996; COOPER et al., 1997a), Hamstern (McORIST et al., 1989b; PEACE et al., 1994), Kaninchen (HOTCHKISS et al., 1996), Mäusen (MURAKATA et al., 2008) und Rhesusaffen (KLEIN et al., 1999) beobachtet. HERBST et al. (2003) weisen den Erreger zudem in Kotproben von Hunden, Kälbern, Igel und Giraffen nach. JASNI et al. (1994) belegen, dass Infektionen von Hamstern mittels vom Schwein stammenden *L. intracellularis* Erregern möglich sind. Die genetische Übereinstimmung eines Ausschnitts der 16S ribosomalen RNA zwischen dem Erreger der proliferativen Enteropathie des Hamsters und dem bei Schweinen gefundenen beträgt 98,4% (PEACE et al., 1994). COOPER et al. (1997b) vergleichen einen abweichenden Abschnitt der 16S ribosomalen DNA (rDNA) und finden eine Übereinstimmung von 100% zwischen Isolaten von Schwein, Hamster, Hirsch und Strauß. Auch HOTCHKISS et al. (1996) ermitteln basierend auf einem Vergleich der 16S rDNA eine nahe Verwandtschaft zwischen den Erregern beim Schwein, Frettchen und Kaninchen. Eine Infektion von Mäusen ist sowohl mit Stämmen vom Schwein als auch mit Stämmen vom Kaninchen möglich (MURAKATA et al., 2008). WATARAI et al. (2008) finden aber antigenetische Unterschiede zwischen *L. intracellularis* Isolaten, welche aus Schweinen und Hamstern isoliert werden.

1.2. Pathogenese

1.2.1. Übertragung

Der Erreger wird oral über den Kot aufgenommen (WENDT et al., 2013). McORIST et al. (2011) weisen mittels polymerase chain reaction (PCR) in bestimmten Arten von Fliegen *L. intracellularis* nach und halten eine Übertragung zwischen verschiedenen Betrieben auf diesem Wege für möglich.

1.2.2. Einfluss der Infektionsdosis

COLLINS und LOVE (2007) infizieren in einem Infektionsversuch (n=20) Schweine künstlich mit unterschiedlich hohen Dosen an *L. intracellularis* (10^{10} , 10^7 , 10^5 Erreger) und zeigen, dass ein unterschiedlich hoher Anteil der Tiere Durchfälle zeigt (80%, 60%, 0%) und sich die Dauer der Durchfälle verändert (13 Tage, zwei Tage, null Tage).

1.2.3. Inkubationszeit

Nach Infektion mit Darmhomogenisaten erkrankter Tiere und Immunsuppression mittels Dexamethason zeigen Schweine in einem Versuch von MAPOTHER et al. (1987) acht bis elf Tage nach der Infektion Durchfälle. In weiteren Infektionsversuchen mit *L. intracellularis* Isolaten aus Zellkultur treten zwei Wochen nach der Infektion Durchfälle auf (SMITH & McORIST, 1997; McORIST et al., 1999b). In einem Infektionsversuch von GUEDES und GEBHART (2003) beschreiben die Autoren bereits ab dem siebten Tag das Auftreten von Durchfall.

1.2.4. Eintritt in die Darmepithelzellen

Nach einer Infektion von Zellkulturen mit *L. intracellularis* lassen sich die Bakterien innerhalb eines Zeitraums von drei Minuten bis zu drei Stunden nach der Infektion auf der Zelloberfläche beobachten, zudem werden sie in einem Zeitraum von drei Minuten bis zu 24 Stunden nach Infektion innerhalb membrangebundener endozytotischer Vakuolen sichtbar (McORIST et al., 1995b). Bei Hamstern mit proliferativer Enteropathie finden sich im Elektronenmikroskop ebenfalls Ansammlungen von *L. intracellularis* innerhalb von „losen Membran gebundenen Strukturen“ direkt unterhalb des Mikrovillisaums befallener Zellen, was als Hinweis für die Aufnahme des Erregers über Endozytose gewertet wird, idente Strukturen bei Schweinen

werden von den Autoren jedoch nur sehr selten beobachtet (McORIST et al., 1989b). McORIST et al. (1997c) vermuten, dass ein Faktor auf der Zellmembran für die Invasion der Zellen notwendig ist. BOUTRUP et al. (2010) zeigen, dass sich bereits zwölf Stunden nach künstlicher Infektion Bakterien in den Darmepithelzellen von Jejunum, Ileum, Caecum und Colon sowie in der Lamina propria finden. Die Bakterien finden sich dabei in verschiedenen Zelltypen des Darmepithelvillus und der Darmepithelkrypte inklusive reifem Villusepithel. Die größte Menge ist dabei am Übergang von Villus zu Krypte vorhanden (BOUTRUP et al., 2010).

1.2.5. Merkmale veränderter Zellen / Lokalisation von *Lawsonia intracellularis* in veränderten Zellen

Die veränderten Epithelzellen weisen ähnliche ultrastrukturelle Merkmale auf wie unreife Zellen (ROWLAND & LAWSON, 1974) und weisen keine schützende Schleimschicht auf (ROWLAND & LAWSON, 1975a). Der Mikrovillisaum sowie das endoplasmatische Retikulum betroffener Zellen sind schlecht ausgebildet (ROWLAND & LAWSON, 1974; McORIST et al., 1989b). ROWLAND und LAWSON (1974) beschreiben eine normale Zahl an Lysosomen und Mitochondrien, McORIST et al. (1989b) dagegen eine verringertes Vorkommen. Bei befallenen Tieren können ROWLAND et al. (1973) *L. intracellularis* frei im Zytoplasma der betroffenen Darmepithelzellen nachweisen. McORIST et al. (1995b) weisen sowohl freiliegende, als auch in Vakuolen befindliche Erreger, die in unmittelbarer Nähe zu Mitochondrien liegen, nach und vermuten, dass der Erreger von der Zelle gebildete Triphosphate nutzt. Dies wird im Weiteren von SCHMITZ-ESSER et al. (2008) bestätigt, welche zeigen, dass der Erreger zelluläres Adenosintriphosphat (ATP) verbraucht und somit am Zellstoffwechsel der Wirtszelle parasitiert.

1.2.6. Freisetzung aus den Wirtszellen / Infektion weiterer Zellen

Laut McORIST et al. (1995b) finden sich zwei und sechs Tage nach der künstlichen Infektion einer Zellkultur sich teilende Bakterien frei im Zytoplasma. Im Weiteren kommt es zur Ansammlung von Erregern in „Zytoplasmaprotrusionen“ und zur Freisetzung, wobei sich die gesamte befallene Zelle ablösen kann (McORIST et al., 1995b; McORIST et al., 1996b). MACINTYRE et al. (2003) weisen den Erreger in Membran gebundenen

Vesikeln basal in den Enterozyten nach und vermuten aus diesem Grund, dass der Erreger über einen aktiven Mechanismus freigesetzt wird. Da sich einige Tage nach der Infektion Gruppen von Bakterien in der Lamina propria stark infizierter Krypten finden, vermuten BOUTRUP et al. (2010), dass die Lamina propria einen möglichen Weg der Weiterverbreitung darstellt und dass auch dort eine Vermehrung erfolgt. MACINTYRE et al. (2003) beschreiben, dass nach künstlicher Infektion von sieben Wochen alten Schweinen (n=28) von Tag 3 bis zu Tag 14 nach der Infektion die Zahl infizierter Krypten zunimmt und danach wieder absinkt.

1.2.7. Ausscheidung des Erregers

1.2.7.1. Beginn der Ausscheidung

Der Erreger wird in einem Versuch von SMITH und McORIST (1997) erstmals zwei Wochen nach künstlicher Infektion im Kot (PCR) nachgewiesen. In einem Versuch von GUEDES und GEBHART (2003) wird er dagegen bereits an Tag 7 nach künstlicher Infektion mittels PCR im Kot gefunden.

1.2.7.2. Dauer der Ausscheidung

L. intracellularis wird sowohl von klinisch erkrankten als auch von gesunden Tieren ausgeschieden (HOLYOAKE et al., 1996). Nach künstlicher Infektion von 24 Tage alten Ferkeln scheiden diese den Erreger in einer Studie von SMITH und McORIST (1997) bis zu zehn Wochen aus. GUEDES und GEBHART (2003) ermitteln nach künstlicher Infektion eine Ausscheidungsdauer von zwölf Wochen, sie beschreiben im Studienverlauf zudem eine intermittierende Ausscheidung des Erregers.

1.2.8. Vorkommen des Erregers außerhalb des Intestinaltrakts

JENSEN et al. (2000) beschreiben, dass sowohl bei an porziner hämorrhagischer Enteropathie (PHE) als auch an nekrotisierender Enteritis (NE) erkrankten Tieren mittels Immunhistochemie (IHC) und PCR in den Tonsillen *L. intracellularis* nachweisbar sind. In anderen Studien sind jedoch nach künstlicher Infektion keine Erreger in den Tonsillen nachweisbar (SMITH & McORIST, 1997; KROLL et al., 2004).

1.2.9. Notwendige Faktoren für eine Krankheitsentstehung

Bei einem Infektionsversuch von McORIST et al. (1993) mittels aus Zellkulturen gewonnenen *L. intracellularis* Inokula gelingt es nicht Läsionen im Sinne einer PPE bei gnotobiotischen Schweinen hervorzurufen - bei Vergleichstieren, welche aus einer konventionellen Herde stammen, lassen sich dagegen entsprechende Läsionen hervorrufen. In einem anderen Versuch zeigen gnotobiotische Schweine Läsionen einer PPE, nachdem sie von McORIST et al. (1989b) mit ultrafiltrierter Darmmukosa infiziert werden. In einer weiteren Studie an gnotobiotischen Schweinen, welchen künstlich eine minimale Darmflora verabreicht wird, zeigen sich nach nachfolgender Infektion mit *L. intracellularis* ebenfalls makroskopisch und mikroskopisch Läsionen einer PPE (McORIST et al., 1994b). Die Autoren vermuten, dass durch die bakterielle Besiedlung die richtigen Umgebungsbedingungen für eine effektive Infektion durch *L. intracellularis* geschaffen werden (McORIST et al., 1994b). McORIST et al. (2006) beschreiben, dass in porzinen Ileumabschnitten, welche in Mäuse verpflanzt werden, nach künstlicher Infektion mit *L. intracellularis* die Erreger zwar in die Zellen eindringen, es aber zu keiner Proliferation kommt. Die Autoren schlussfolgern, dass somit eine Proliferation durch *L. intracellularis* nur in Krypten auftritt, die sich normal teilen und differenzieren (McORIST et al., 2006).

1.2.10. Besonderheiten bei an porziner hämorrhagischer Enteropathie erkrankten Tieren

Die starken bei einer PHE auftretenden Blutungen gehen laut McORIST et al. (1992) nicht mit Gewebeschäden einher, sondern könnten die Folge von Veränderungen an den Blutgefäßen sein. Bei der PHE zeigen sich außerdem lysierte Zellen im Gewebe (McORIST et al., 1992). Bezüglich der Erregerverteilung lassen sich mittels In-situ-Hybridisierung (ISH) keine Unterschiede zwischen an porziner intestinaler Adenomatose (PIA) und an PHE erkrankten Schweinen nachweisen (GEBHART et al., 1994). JENSEN et al. (2000) finden jedoch mittels IHC bei an PHE erkrankten Tieren *L. intracellularis* auch in Blut- und Lymphgefäßen der Lamina propria und der Submukosa des Darms. Auch MACINTYRE et al. (2003) weisen bei an PHE erkrankten Tieren den Erreger in großer Zahl in der Lamina propria nach und halten es für möglich, dass eine massive Aufnahme dieser Erreger durch Makrophagen mit

anschließender Zytokinfreisetzung verantwortlich für eine veränderte Gefäßpermeabilität bei an PHE erkrankten Tieren ist.

1.2.11. Interaktionen mit anderen Erregern

JENSEN et al. (2010) weisen mittels IHC *L. intracellularis* im Inneren von Protozoen (*Balantidium coli*) auf der Darmschleimhaut nach und halten eine Rolle der Protozoen bei der Übertragung für möglich. Bei gleichzeitiger künstlicher Infektion von Tieren mit *porzinem Circovirus Typ 2* (PCV2) und *L. intracellularis* tritt laut OPRIESSNIG et al. (2011) keine Potenzierung der mikroskopisch sichtbaren Gewebeschäden auf.

1.2.12. Heilungsprozess

Nach sieben bis neun Wochen setzt laut McORIST et al. (1996b) der Heilungsprozess ein, welcher durch die wieder einsetzende Apoptose und anschließende Phagozytose von betroffenen Epithelzellen und der wieder erfolgenden Bildung von Becherzellen gekennzeichnet ist. BOESEN et al. (2004) beschreiben bei Schweinen fünf Wochen nach der künstlichen Infektion histologisch normale Darmkrypten, welche von Makrophagen umgeben sind, die *L. intracellularis* Antigen beinhalten und interpretieren dies als Anzeichen für eine schwächer werdende Infektion. MACINTYRE et al. (2003) weisen bereits 21 Tage nach künstlicher Infektion einen Rückgang der hyperplastischen Zellen und ein erneutes Auftreten von Becherzellen auf und beschreiben im weiteren Heilungsverlauf eine Phase mit Hyperplasie und Hypersekretion von Becherzellen.

1.3. Immunantwort

1.3.1. Lokale Immunantwort im Darm

Bei der chronischen PPE weisen McORIST et al. (1992) eine Akkumulation von Immunglobulin A (IgA) Antikörpern apikal in den Enterozyten nach und bei Tieren mit PHE finden sich IgA und Immunglobulin M (IgM) positive B-Zellen. GUEDES und GEBHART (2010) weisen 22 Tage nach künstlicher Infektion von fünf Wochen alten Tieren in einer Lavage aus dem Ileum bei 70-80% der Tiere gegen *L. intracellularis* gerichtetes IgA nach. Bei chronischer PPE findet sich eine geringe Zahl an CD8+ T-Zellen in der Darmschleimhaut, bei der PHE findet sich eine „moderate“ Zahl an CD8+ und CD25+ Zellen (McORIST et al., 1992).

MACINTYRE et al. (2003) zeigen, dass es 14 Tage nach künstlicher Infektion zu einer Reduktion der Anzahl von CD8⁺ T-Zellen sowie von B-Zellen kommt, gleichzeitig erfolgt ein starker Anstieg der Makrophagenzahl. NOGUEIRA et al. (2013) beschreiben, dass in Schleimhautgeschabseln von Tieren, welche mit der zehnfachen Dosis eines Lebendimpfstoffs oral geimpft werden, an Tag 9 nach der Impfung signifikant höhere IgM-Level sowie an Tag 17 signifikant höhere Level an Immunglobulin G (IgG), Tumornekrosefaktor- α und transforming growth factor- β 1 gefunden werden. Da der Erreger unreife Enterozyten befällt, welche keine Major Histocompatibility Complex 2 Moleküle ausbilden, scheint es möglich, dass er auf diese Weise dem Immunsystem ausweicht (McORIST et al., 1992).

1.3.2. Antikörperbildung im Serum

Mittels Immunfluoreszenztest (IFT) aus Serumproben für IgM, IgG und IgA Antikörper gegen *L. intracellularis* zeigen LAWSON et al. (1988), dass beim Schwein hauptsächlich IgM gegen den Erreger gebildet wird. In einem Infektionsversuch von COLLINS und LOVE (2007) zeigen die Autoren, dass sich die Höhe der Antikörpertiter (IgG) 70 Tage nach der Infektion abhängig von der Infektionsdosis unterscheidet, wobei die Tiere mit der höchsten Infektionsdosis die höchsten Antikörpertiter aufweisen. Nach einem Ausbruch von PHE weisen GUEDES et al. (2002b) bei Jungsauen für bis zu drei Monate Antikörper gegen *L. intracellularis* nach.

1.3.2.1. Zeitraum von der Infektion bis zur Antikörperbildung

In einer Studie von KNITTEL et al. (1998) finden sich im immunofluorescence antibody test (IFAT) bei 0-30% der Tiere 14 Tage nach der Infektion und bei 88-100% der Tiere 21 Tage nach der Infektion Antikörper (IgG) gegen *L. intracellularis*. In einem Versuch von MARSTELLER et al. (2001) weisen 28 Tage nach der Infektion 86% der Tiere im IFAT Antikörper gegen *L. intracellularis* auf. GUEDES et al. (2002a) finden 14 Tage nach künstlicher Infektion bei 21% der Tiere im IFAT sowie mittels immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) Antikörper, nach 21 Tagen bei 92,3% und nach 28 Tagen bei 95,8%. Nach künstlicher Infektion im Alter von fünf Wochen weisen WATTANAPHANSAK et al. (2008) dagegen an Tag 21 nach der Infektion abhängig vom Testsystem nur bei 42-46% der Tiere, an Tag 14 nur bei 0-4%

Antikörper gegen *L. intracellularis* nach.

1.3.2.2. Einfluss des Einsatzes antibiotischer Substanzen auf die Serokonversion

SCHWARTZ et al. (1999) zeigen, dass nach künstlicher Infektion ein im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle signifikant geringerer Teil der, über das Futter mit Tiamulin behandelten Tiere, 28 Tage nach der Infektion eine Serokonversion zeigt. In einer Infektionsstudie von MARSTELLER et al. (2001) werden 50% der Tiere ab Tag 14 für drei aufeinanderfolgende Tage mit Tylosin behandelt, es zeigen sich an Tag 28 jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Zahl positiver Tiere zwischen Behandlungs- (83%) und Kontrollgruppe (90%). In einer Studie von NATHUES und GROSSE BEILAGE (2008) werden Schweine nach dem Einstellen in die Mast für 21 Tage mit Tylosin behandelt und am Ende der Mast bei einer Stichprobe die Serokonversion gegen *L. intracellularis* ermittelt, dabei bestehen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Anteils positiver Tiere zwischen der Kontrollgruppe und den behandelten Tieren.

1.3.2.3. Bedeutung der humoralen Antikörper

In einem Versuch können McORIST et al. (1997c) zeigen, dass aus Mäusen stammende gegen *L. intracellularis* gerichtete IgG Antikörper Zellen vor einer Infektion mit dem Erreger schützen. NOGUEIRA et al. (2013) vermuten weiterhin, dass der Schutz, welcher durch eine intramuskuläre Applikation eines Lebendimpfstoffs gegen *L. intracellularis* erzeugt wird, durch die höhere Menge an Serumantikörpern bedingt ist, welche eine Infektion der Darmepithelzellen mit dem Erreger verhindern.

1.3.2.4. Maternale Antikörper

HOLYOAKE et al. (1994c) zeigen, dass die Antikörpertiter (IgG) von 15 Tieren aus einer Herde mit endemischer PPE im Alter von drei Wochen höher sind als im Alter von sechs Wochen und interpretieren diesen Rückgang als ein Absinken von maternalen Antikörpern. GUEDES et al. (2002b) finden bei Ferkeln seropositiver Sauen für bis zu fünf Wochen nach der Geburt Antikörper. WENDT et al. (2006) untersuchen in einer Querschnittsstudie in *L. intracellularis* positiven Betrieben verschiedene Altersgruppen, dabei weisen sie ein Absinken des Anteils serologisch positiver Tiere von der vierten (11,4%), über die sechste (5,7%) bis

zur achten Woche (4,5%) nach, was als Absinken maternaler Antikörper interpretiert wird. BONA und BILKEI (2003) finden dagegen bei Ferkeln seropositiver Jungsaugen im Alter von zwei und sechs Wochen im IFAT keine Antikörper.

1.3.3. Ausbildung der zellulären Immunität

GUEDES und GEBHART (2003) weisen *L. intracellularis* spezifische Interferon- γ produzierende T-Zellen nach künstlicher Infektion mit einem pathogenen *L. intracellularis* Isolat erstmals neun Tage nach der Infektion nach, bei Impfung mit einem kommerziellen Lebendimpfstoff detektieren sie erste Zellen nach 28 Tagen. Die Zellen können dabei sowohl bei geimpften als auch bei mit pathogenen Erregern infizierten Tieren noch 13 Wochen nach der Infektion gefunden werden (GUEDES & GEBHART, 2003). In einer weiteren Studie an künstlich infizierten Tieren weisen GUEDES und GEBHART (2010) bei 10-20% der Tiere 14 Tage nach der Infektion und bei 20% der Tiere 20 Tage nach der Infektion Interferon- γ produzierende T-Zellen nach.

1.3.4. Schutz vor Erkrankung nach vorangegangener Infektion

COLLINS und LOVE (2007) infizieren Schweine künstlich mit unterschiedlichen Mengen an *L. intracellularis*, wobei die Tiere unabhängig von der initialen Dosis bei einer zweiten künstlichen Infektion 70 Tage nach der ersten keine Krankheitssymptome zeigen und keine Erreger ausscheiden.

1.4. Epidemiologie

1.4.1. Prävalenz in Europa

SMITH et al. (1998) ermitteln in einer Umfrage basierten Studie für die Jahre 1992-1995 in Großbritannien eine PPE Prävalenz von 31%. THOMSON et al. (1998) untersuchen 85 Betriebe in Großbritannien mit Fällen von Kolitis und Typhlokolitis und weisen bei 15% eine PPE nach. STEGE et al. (2000) untersuchen Kotproben von 30-50 kg schweren Tieren in 79 dänischen Betrieben, dabei sind 97,4% der Betriebe positiv. In einer Studie von CHOUEY et al. (2003) werden Tiere aus 33 französischen und 29 spanischen Betrieben im Alter zwischen 8-20 Wochen serologisch auf *L. intracellularis* untersucht, dabei sind 88% respektive 89,7% positiv. HERBST et al. (2003) untersuchen in 70 klinisch unauffälligen hessischen Schweinebeständen Sammelkotproben (n=203) mittels

PCR auf *L. intracellularis*. Dabei weisen 30% der Bestände mindestens eine positive Probe auf. Bei Absetzferkeln sind 16,6% der Proben positiv, bei Jungsauen 15,3%, bei Altsauen 7,6% und bei Mastschweinen 11,1% (HERBST et al., 2003). In einer Studie von WENDT et al. (2006) werden Kot- bzw. Darmproben (n=826) aus 403 Betrieben mit einer vorberichtlichen Durchfallsymptomatik mittels IFT untersucht, dabei sind 24,7% der Proben und 33,7% der Betriebe positiv. WENDT et al. (2006) untersuchen in einer weiteren Studie mittels IFT Blutproben, dabei weisen 81,5% der reinen Mastbetriebe (n=259), 89,2% der geschlossenen Systeme (n=157), 79,2% der Ferkelerzeuger (n=154) und 18,2% der reinen Aufzüchter (n=22) mindestens ein positives Tier auf. Bei den Mastschweinen <50kg weisen 64,3% der Bestände mindestens ein positives Tier auf, bei den Mastschweinen >50kg sind es 88,9% (WENDT et al., 2006). STEINHEUER et al. (2007) untersuchen mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Blutproben aus Betrieben in Deutschland (n=126). Hierbei weisen in der Mast 91% der untersuchten Bestände mindestens ein positives Tier auf und am Ende der Aufzucht 44% (Tabelle 1).

Tabelle 1: Epidemiologische Daten zum Vorkommen von *L. intracellularis* in unterschiedlichen Altersgruppen (STEINHEUER et al., 2007)

Altersgruppe	Anzahl Proben	Anzahl positiver Tiere
Altsauen	5	82%
Jungsauen	5	75%
Beginn der Aufzucht	5	11%
Ende der Aufzucht	10	9%
Mast (13 Wochen alt)	10	24%
Mast (18 Wochen alt)	10	44%
Mast (24 Wochen alt)	5	63%

1.4.2. Prävalenz in Nordamerika

CORZO et al. (2005) untersuchen Mastschweine aus 29 zufällig ausgewählten Schweineherden in Ontario (Kanada) mittels IFAT und IPMA auf Antikörper

gegen *L. intracellularis*, dabei sind 72-76% der Herden positiv. In einer Studie von ARMBRUSTER et al. (2007) wird in den USA bei neun Wochen alten Tieren in 13,9% (n=65), bei 15 Wochen alten Tieren in 47,9% (n=73) und bei 24 Wochen alten Tieren in 77,1% (n=70) der Betriebe mindestens eine positive Blutprobe gefunden (IPMA). Dabei sind 0,7% (9 Wochen), 8,2% (15 Wochen) und 39,3% (24 Wochen) der beprobten Tiere positiv.

1.4.3. Prävalenz in Asien und Australien

In einer Studie von HOLYOAKE et al. (2010) werden Blutproben von Endmasttieren mittels ELISA auf Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht, dabei sind 100% der Herden (n=63) und 84,2% der Proben (n=1817) positiv. In einer Studie untersuchen KIM et al. (1998) mittels PCR je 14 Kotproben von Mastschweinen aus 35 geschlossenen Betrieben in Korea. Es weisen dabei 20% der Herden mindestens eine positive Probe auf und 3,4% der Proben sind positiv (KIM et al., 1998). Mittels IFAT untersuchen LEE et al. (2001) Serumproben (n=828) aus 65 koreanischen Schweineherden. Dabei weisen 100% der Herden mindestens eine positive Probe auf, bei vier bis zehn Wochen alten Tieren sind 57%, bei elf bis 13 Wochen alten 44,9% und bei Tieren über 14 Wochen 59,4% positiv (LEE et al., 2001). CHANG et al. (1997) untersuchen Kotproben (PCR) von je 14 Mastschweinen/Absetzferkeln aus 40 geschlossenen Betrieben in Taiwan. Dabei weisen 30% der Herden mindestens eine positive Probe auf, insgesamt sind 5,5% der Proben positiv.

1.4.4. Einflussfaktoren

In einer Fragebogen basierten Studie aus Großbritannien zeigen SMITH et al. (1998), dass Herden mit >500 Sauen eine höhere PPE Prävalenz aufweisen, ebenso weisen Betriebe, die ein „all in - all out“ Verfahren nur in Bezug auf Buchten statt in Bezug auf den ganzen Stall praktizieren, eine höhere Prävalenz auf (SMITH et al., 1998). STEINHEUER et al. (2007) beschreiben, dass Tiere, welche aus Beständen mit mehr als 800 Mastplätzen stammen, im Alter von 13 Wochen durchschnittlich höhere prozentuale Inhibitionswerte (PI-Werte) im ELISA aufweisen als solche aus Beständen mit weniger als 800 Tieren. Auch weisen Tiere aus Betrieben, welche im geschlossenen System produzieren, im Alter von 13 Wochen und 18 Wochen signifikant höhere PI-Werte auf als solche aus reinen Mastbetrieben (STEINHEUER et al., 2007). Tiere aus Betrieben mit

sehr geringem Krankheitsdruck können laut WARD und WINKELMAN (1990) hochempfindlich für den Erreger sein. In einer Vergleichsstudie zwischen Tieren, welche ab der siebten bis achten Lebenswoche entweder in konventioneller Aufzucht und Mast oder in Freilandhaltung gehalten werden, ist ein größerer Anteil der konventionell gehaltenen Tiere im Alter von zehn Wochen (71,1% vs. 32,8%) und 14 Wochen (71,1% vs. 7,6%) seropositiv (BONA & BILKEI, 2003). Darüber hinaus sind im Alter von 18 Wochen (52,1%), 22 Wochen (47,8%) und 26 Wochen (21,7%) bei den konventionell gehaltenen Tieren weiterhin Antikörper gegen *L. intracellularis* zu finden, während die Tiere in Freilandhaltung serologisch negativ sind (BONA & BILKEI, 2003). STEGE et al. (2001) weisen nach, dass Betriebe, die ihr Futter selbst mischen, eine niedrigere *L. intracellularis* Prävalenz aufweisen als solche, die mit zugekauftem Futter arbeiten. In einer Studie von BOESEN et al. (2004) scheiden Tiere, die nach der künstlichen Infektion mit fermentiertem Flüssigfutter gefüttert werden, den Erreger signifikant kürzer aus als Tiere, welche mit fein gemahlenem pelletierten Futter gefüttert werden. Schweine, welche 10% Trockenschlempe in ihrer Ration erhalten, weisen nach künstlicher Infektion in der IHC eine geringere Zahl von infizierten Zellen auf als solche, die nur die Standardfütterung aus Mais und Sojabohnen erhalten (WHITNEY et al., 2006).

1.5. Klinik der porzinen proliferativen Enteropathie

1.5.1. Chronische porzine proliferative Enteropathie / porzine intestinale Adenomatose

HOLYOAKE et al. (1994b) ermitteln bei 17 australischen Betrieben mit dem Vorbericht einer chronischen PPE bei den betroffenen Tieren ein Alter von sechs bis 24 Wochen. In Übereinstimmung geben KNITTEL et al. (1998) ein Alter von sechs bis 20 Wochen an, in welchem die Krankheit hauptsächlich auftritt. Von der Krankheit betroffene Tiere zeigen ein vermindertes Wachstum (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; KNITTEL et al., 1998) sowie Durchfälle (ROWLAND & LAWSON, 1974; KNITTEL et al., 1998), welche allerdings nicht das auffälligste Symptom darstellen (ROWLAND & LAWSON, 1974). Die betroffenen Tiere weisen zudem oft nur eins der genannten Symptome auf (WARD & WINKELMAN, 1990) und verlieren häufig an Kondition (ROWLAND & LAWSON, 1974). Das verlangsamte Wachstum dauert ungefähr vier bis acht

Wochen, dann zeigen die Tiere wieder normale Wachstumsraten (ROWLAND & ROWNTREE, 1972). Eine Besserung der klinischen Symptome tritt meist nach ungefähr sechs Wochen ein (ROWLAND & LAWSON, 1974).

1.5.2. Akute porcine proliferative Enteropathie / akute Ileitis / porcine hämorrhagische Enteropathie

HOLYOAKE et al. (1994a) beschreiben bei sieben von PHE betroffenen australischen Schweinebeständen bei den betroffenen Tieren ein Alter von 16-38 Wochen, KNITTEL et al. (1998) nennen ein Alter von zwölf bis 30 Wochen. Betroffene Tiere zeigen blutige (HOLYOAKE & CUTLER, 1995) bis teerartige, schwärzliche Durchfälle (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; HOLYOAKE & CUTLER, 1995). Die Tiere werden blass, und es kommt zu akuten Todesfällen (ROWLAND & ROWNTREE, 1972). Bis zu 70% der klinisch erkrankten Tiere sterben (HOLYOAKE & CUTLER, 1995). Nach der Erholung kann die Krankheit in eine PIA übergehen (ROWLAND & ROWNTREE, 1972). ROWLAND und ROWNTREE (1972) beschreiben einen Ausbruch der Erkrankung in einer neu (mit per Sectio geborenen Tieren) aufgebauten Herde, nach dem initialen Ausbruch kommt es zu keinen blutigen Durchfällen mehr, jedoch zu schlechtem Wachstum und schlechter Futterverwertung über einen Zeitraum von zwölf Wochen. Das schlechte Wachstum sowie die schlechte Futterverwertung sind dabei Symptome, welche auf eine chronische PPE hinweisen (McORIST et al., 1997b; McORIST et al., 1999b). HOLYOAKE und CUTLER (1995) beschreiben Aborte bei einem Ausbruch von PHE und führen diese auf Fieber und Inappetenz, welche im Zusammenhang mit der PHE beobachtet werden, zurück. Auch McORIST et al. (1999a) beschreiben einen Ausbruch von PHE in einem englischen Betrieb, bei dem es zu Aborten nach drei Monaten Trächtigkeit kommt.

1.5.3. Subklinische Infektion

WARD und WINKELMAN (1990) vermuten, dass ein Hauptgrund für die durch antibiotische Futtermedikation erzielten Leistungszuwächse bei klinisch unauffälligen Tieren eine subklinische Infektion mit *L. intracellularis* darstellt. HOLYOAKE et al. (1996) weisen nach, dass sowohl klinisch kranke als auch gesunde Tiere den Erreger ausscheiden können. McORIST und SMITS (2007) charakterisieren schließlich die subklinische PPE als mildere Form der

chronischen PPE, die vor allem mit Leistungseinbußen einhergeht.

1.5.4. Ökonomische Bedeutung / Verschlechterung der Leistungsparameter

McORIST et al. (1997a) ermitteln nach künstlicher Infektion von 24 Tage alten Ferkeln über einen Zeitraum von vier bis acht Wochen nach der Infektion eine Verringerung der Tageszunahmen um 9-31% und eine Verschlechterung der Futterverwertung um 6-35%. In einer weiteren Studie von McORIST et al. (1997b) zeigen Schweine nach künstlicher Infektion im Alter von 24 Tagen Durchfälle und gegenüber der Kontrollgruppe um 9% verringerte Tageszunahmen sowie eine verschlechterte Futterverwertung (1,60 vs. 1,49). In Übereinstimmung zeigen die Tiere in einem weiteren Versuch 14 Tage nach künstlicher Infektion grauen wässrigen Durchfall bei gleichzeitig deutlich verschlechterter Futterverwertung (1,75 vs. 1,59) und verschlechterten Tageszunahmen (240g vs. 290g) (McORIST et al., 1999b).

1.6. Diagnostik

1.6.1. Pathomorphologische Untersuchung

1.6.1.1. Chronische porcine proliferative Enteropathie / chronische Ileitis / porcine intestinale Adenomatose

Bei der chronischen PPE oder PIA zeigt sich eine Verdickung der Wand betroffener Darmareale, sowie Ödeme in der Subserosa, und die Schleimhaut zeigt eine tiefe transversale Fältelung (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; WARD & WINKELMAN, 1990). Außerdem können im Colon verschieden geformte Polypen auftreten (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; WARD & WINKELMAN, 1990). Betroffen ist vor allem das Ileum, es können jedoch auch das Caecum und proximale Abschnitte des Colons betroffen sein (WARD & WINKELMAN, 1990). Die ilealen Lymphknoten können ödematisiert und vergrößert sein (WILSON et al., 1986).

1.6.1.2. Akute porcine proliferative Enteropathie / akute Ileitis / Porcine hämorrhagische Enteropathie

Bei der PHE zeigen sich Verdickungen und Ödeme im Ileum (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; WARD & WINKELMAN, 1990), sowie teilweise im

distalen Jejunum, Caecum und distalen Colon (WARD & WINKELMAN, 1990). In schweren Fällen lassen sich massive Blutungen in das Darmlumen, sowie Ausgüsse des Lumens aus geronnenem Blut (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; MAPOTHER et al., 1987) und Fibrin (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; JOENS et al., 1997) finden. Die Schleimhautoberfläche zeigt sich gefältelt (WARD & WINKELMAN, 1990; HOLYOAKE & CUTLER, 1995) und entzündet (HOLYOAKE & CUTLER, 1995). In Colon und Caecum findet sich halbflüssiger, dunkelroter teerartiger Inhalt, die Gewebe betroffener Tiere erscheinen blass (WARD & WINKELMAN, 1990).

1.6.1.3. Nekrotisierende Enteritis

Bei der nekrotisierenden Enteritis zeigt sich auf der betroffenen Darmschleimhaut makroskopisch graues bis gelbes nekrotisches Gewebe mit tiefen Rissen (ROWLAND & LAWSON, 1975a) und Entzündungsmaterial (MAPOTHER et al., 1987), welches fest mit der darunterliegenden Schleimhaut verbunden ist, das Entzündungsmaterial kann dabei das gesamte Darmlumen ausfüllen (MAPOTHER et al., 1987). Die darunter liegende Schleimhaut ist hyperämisch und schwammartig und kann Ulcera aufweisen (MAPOTHER et al., 1987).

1.6.1.4. Regionale Ileitis

Die regionale Ileitis (RI) ist gekennzeichnet durch ein verdicktes festes Ileum, welches ein verkleinertes Lumen aufweist (ROWLAND & LAWSON, 1975a). Die Darmmukosa ist laut ROWLAND und LAWSON (1975a) nur noch stellenweise vorhanden, dafür zeigen sich eine Hypertrophie der Darmmuskulatur und die Bildung von Narbengewebe in der Submukosa.

1.6.1.5. Befundung von Organen am Schlachtband

Die makroskopische Untersuchung von Ileum- und Dickdarmschleimhäuten auf Verdickungen weist in einer Studie an 40 Tieren von JONES et al. (1993c) zum Zeitpunkt der Schlachtung eine hohe Sensitivität (100%) bei geringer Spezifität auf (58%). Werden nur Verdickungen und Ödeme des Ileums als positives Diagnosekriterium bewertet, steigt die Spezifität der Untersuchung auf 89% (JONES et al., 1993c).

1.6.2. Pathohistologische Untersuchung

Es zeigen sich im Darm der von PPE betroffenen Tiere Proliferation der

Kryptepithelzellen (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; LOMAX & GLOCK, 1982; McORIST et al., 1997b) mit einer Verlängerung der Krypten und Verkürzung der Darmvilli (LOMAX & GLOCK, 1982) bis hin zu einer vollständig zottenfrei erscheinenden Darmschleimhaut (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; LOMAX & GLOCK, 1982). Es zeigen sich zahlreiche Mitosefiguren (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; McORIST et al., 1993), und es sind nur wenige Becherzellen vorhanden (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; MAPOTHER et al., 1987; McORIST et al., 1997b). In der Lamina propria der Darmmukosa finden sich laut ROWLAND und ROWNTREE (1972) Lymphozyten sowie Plasmazellen. Es können sich versprengte unreife Epithelzellen im Lymphonodus ileocecalis finden (LOMAX & GLOCK, 1982). In den Venen und Arterien der Ileumwand können sich organisierte Fibrinthromben finden (WILSON et al., 1986).

1.6.2.1. Porzine hämorrhagische Enteropathie

Bei der PHE ist die Darmschleimhaut mit Fibrin, Blut und abgeschilferten Zellmaterial bedeckt, und es zeigen sich kapillare Blutungen in der Lamina propria (ROWLAND & LAWSON, 1975b). Es finden sich zudem Blut (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; McORIST et al., 1992) sowie Fibrin (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; LOMAX & GLOCK, 1982) im Darmlumen. Die Mukosa ist hyperplastisch, und es kann zur Ausbildung zahlreicher Mitosefiguren kommen (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; ROWLAND & LAWSON, 1975b). In der Lamina propria findet sich eine „moderate“ Anzahl an mononukleären Zellen (McORIST et al., 1992). Vereinzelt fallen Ansammlungen von polymorphkernigen (neutrophilen) Granulozyten auf (ROWLAND & ROWNTREE, 1972; ROWLAND & LAWSON, 1975b; McORIST et al., 1992).

1.6.2.2. Nekrotisierende Enteritis

Bei der NE zeigt sich eine Koagulationsnekrose der Schleimhaut mit einer Entzündung der tieferen Gewebeschichten, und die anliegende Darmschleimhaut besteht aus unreifen proliferierenden Enterozyten (ROWLAND & LAWSON, 1975a).

1.6.2.3. Regionale Ileitis

Bei der RI zeigt sich histologisch Granulationsgewebe mit vereinzelt Resten an

Darmmukosa, welches von unreifen Darmepithelzellen eingefasst ist und mit einer Schicht von nekrotischem Material bedeckt ist (ROWLAND & LAWSON, 1975a).

1.6.3. Spezifische Nachweismethoden im Gewebe

1.6.3.1. Warthin-Starry Silberfärbung

Nach Durchführung der Färbung zeigen sich in betroffenen Darmarealen gekrümmte Bakterien im apikalen Zytoplasma von unreifen Enterozyten (LOMAX & GLOCK, 1982; GEBHART et al., 1994; JOENS et al., 1997).

1.6.3.2. Immunhistochemie / Immunofluoreszenztest

McORIST et al. (1987) beschreiben den Nachweis von *L. intracellularis* in histologischen Schnitten des Darms von Schweinen und Hamstern mittels Immunfluoreszenztest unter Verwendung von in Mäusen erzeugten monoklonalen Antikörpern.

1.6.3.3. In-situ-Hybridisierung

Mittels In-situ-Hybridisierung mit einer spezifischen DNA Sonde für *L. intracellularis* weisen GEBHART et al. (1994) an Gefrierschnitten des Darms von an PIA und PHE erkrankten Schweinen den Erreger in den apikalen unreifen Kryptepithelien nach, ein Nachweis an in Formalin fixierten Schnitten ist mittels der beschriebenen Methode nicht möglich. BOYE et al. (1998) beschreiben den Nachweis von *L. intracellularis* in Formalin fixierten Schnitten von 15 an PPE erkrankten Tieren mittels einer spezifischen 16s RNA Sonde, im Vergleich zum IFT zeigt sich dabei im Gewebe eine geringere Fluoreszenz, was die Autoren darauf zurückführen, dass von der ISH nur lebende Erreger dargestellt werden. JENSEN et al. (2010) versuchen mittels ISH den Erreger in autolytischen Darmabschnitten, die für 14 Tage bei 20°C gelagert werden, nachzuweisen, dabei sind zwei von neun Proben positiv.

1.6.3.4. Polymerase chain reaction

McORIST et al. (1994a) beschreiben den Nachweis von *L. intracellularis* in Gewebeschnitten von Schweinen mit bestätigter PPE mittels PCR. RICHTER et al. (2010) beschreiben den Nachweis des Erregers in Schleimhautgeschabseln und Formalin fixierten Paraffinschnitten mittels einer quantitativen rtPCR (real time

PCR).

1.6.4. Erregernachweise im Kot

1.6.4.1. Immunfluoreszenztest / Immunoperoxidasefärbung

Mittels eines IFT unter Verwendung von in Mäusen erzeugten monoklonalen Antikörpern können McORIST et al. (1987) *L. intracellularis* in Kottausstrichen von Schweinen und Hamstern nachweisen. Unter Nutzung identischer Antikörper weisen auch GUEDES et al. (2002c) mittels einer Immunoperoxidasefärbung (IPX) den Erreger in Kotproben künstlicher infizierter Tiere nach.

1.6.4.2. DotBlot Hybridisierung

Nach Extraktion der DNA aus dem Kot und mittels Dotblot Hybridisierung mit einer spezifischen DNA Sonde detektieren JONES et al. (1993a) sowohl in künstlich mit dem Erreger versehenen Kotproben als auch in solchen, welche von natürlich infizierten Tieren stammen, *L. intracellularis* Konzentrationen ab 10^7 /g Kot. In einer Studie an 19 Schweinen mit verdickter Schleimhaut in Ileum oder Dickdarm und 21 Tieren mit unveränderter Darmschleimhaut wird für dieses Testsystem eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 91% ermittelt (JONES et al., 1993c).

1.6.4.3. Polymerase chain reaction

Unter Nutzung einer nested PCR (nPCR) können nach Amplifikation eines 319 Basenpaare (bp) umfassenden DNA Fragments mit anschließender Gelelektrophorese und Ethidiumbromidfärbung Erregermengen von 10^3 Erregern pro Gramm Kot nachgewiesen werden (JONES et al., 1993b; MCCORMICK et al., 1995). Auch eine Detektion der Amplifikate mittels Southern Blot ist beschrieben (JONES et al., 1993b). Die verwendete PCR weist dabei in einer nachfolgenden Studie an 40 Tieren von JONES et al. (1993c) eine Sensitivität und Spezifität von 100% auf. McORIST et al. (1994a) können unter Verwendung identer Primer mittels PCR 21 Tage nach künstlicher Infektion in 88% der Tiere mit PPE *L. intracellularis* nachweisen. ELDER et al. (1997) beschreiben eine Multiplex PCR (mPCR) zum zeitgleichen Nachweis von *L. intracellularis*, *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* und *Salmonella spp.* Es besteht eine 100%ige Übereinstimmung zwischen in der PCR für *L. intracellularis* positiven Proben (zwei Geschabsel, eine Kotprobe) und dem Vorkommen von

histologischen Läsionen im Sinne einer PPE. Die Ergebnisse der in der mPCR negativen Kotproben werden nicht histologisch überprüft, somit ist eine Aussage zur Sensitivität der mPCR aus Kot nicht möglich (ELDER et al., 1997). SUH et al. (2000) beschreiben eine „single step“ PCR bei der ein für *L. intracellularis* spezifisches 210bp langes Genomfragment amplifiziert wird. ZHANG et al. (2000) zeigen, dass eine PCR aus Kottupfern und Gewebe mit anschließendem enzyme linked oligosorbent assay oder Southern Blot eine höhere Sensitivität aufweist als eine PCR mit nachfolgender Gelelektrophorese und Ethidiumbromidfärbung.

LINDECRONA et al. (2002) beschreiben eine PCR mit 5'Nuclease Assay, welche ein Detektionslimit von 4×10^4 Erregern/g Kot aufweist, sie weisen hierbei für einen bestimmten Bereich eine Korrelation von Zyklenzahl (ct-value) und *L. intracellularis* Gehalt der Probe nach. NATHUES et al. (2009) beschreiben eine quantitative rtPCR, welche ein 525bp langes Genomfragment von *L. intracellularis* amplifiziert. Die Autoren geben das untere Detektionslimit mit einem Genomäquivalent an, eine Quantifizierung wird aber erst ab $2,8 \times 10^6$ Erregern/g Kot möglich. DROZD et al. (2010) beschreiben eine quantitative rtPCR, bei der ein 161bp langes spezifisches Genfragment von *L. intracellularis* amplifiziert wird. Die Autoren beschreiben, dass mittels dieser Methode der Nachweis von weniger als 10^1 Genomkopien aus 30ml Kot möglich ist. RICHTER et al. (2010) beschreiben eine quantitative rtPCR, welche ein Amplifikat von 61bp erzeugt und ein Detektionslimit von 18 Genomkopien pro „Kavität“ der Mikrotiterplatte aufweist. Sie beschreiben zudem, dass in 1,6% der Kotproben (n=62) eine Inhibition der quantitativen PCR auftritt, welche durch Verdünnung vermieden werden kann (RICHTER et al., 2010). PEDERSEN et al. (2012) zeigen, dass sich bei Tieren, welche makroskopische Läsionen einer PPE aufweisen, höhere Mengen ($5,92 \log_{10}/g$ Kot) an *L. intracellularis* im Kot finden als bei Tieren ohne diese Läsionen ($< 3,30 \log_{10}/g$ Kot). Zudem korreliert der Schweregrad an histologischen Läsionen und der Anteil an betroffener Darmmukosa (IHC) mit einer höheren Menge an *L. intracellularis* im Kot (PEDERSEN et al., 2012).

1.6.5. Serologie

1.6.5.1. Immunofluorescenceantibodytest

LAWSON et al. (1988) beschreiben den Nachweis von Antikörpern gegen *L. intracellularis* mittels immunofluorescence assay (IFA) bei an PPE erkrankten Tieren, dabei zeigen die Tiere für IgM höhere Titer als für IgA und IgG. KNITTEL et al. (1998) beschreiben einen IFAT zur Detektion von IgG Antikörpern gegen *L. intracellularis* unter Nutzung von Zellkulturplatten und GUEDES et al. (2002c) beschreiben diese Methode unter Verwendung von McCoy-Zellkulturplatten oder mit *L. intracellularis* Antigen beschichteten Objektträgern.

1.6.5.2. Immunoperoxidase monolayer assay

GUEDES et al. (2002a) beschreiben einen IPMA unter Nutzung von McCoy Zellkulturen zum Nachweis von Antikörpern gegen *L. intracellularis*.

1.6.5.3. Enzyme linked immunosorbent assay

Unter Nutzung von *L. intracellularis* Antigen aus dem Darm erkrankter Schweine weisen HOLYOAKE et al. (1994c) mittels eines ELISA gegen *L. intracellularis* gerichtete IgG Antikörper im Blut von Schweinen verschiedener Altersgruppen nach. Ein blocking ELISA, welcher Antigen aus in McCoy Zellkulturen vermehrten Erregern nutzt, wird von KELLER et al. (2004) beschrieben. WATTANAPHANSACK et al. (2008) beschreiben einen ELISA unter Nutzung von ultraschallbehandeltem *L. intracellularis* Antigen aus Zellkulturen. Sie zeigen eine gute Wiederholbarkeit bei mehrfacher Untersuchung der gleichen Proben (Variationskoeffizient >10%) (WATTANAPHANSACK et al., 2008).

1.6.6. Vergleich der diagnostischen Sensitivität unterschiedlicher Testverfahren

1.6.6.1. Serologie

Bei 75% der Schweine, welche bei der Sektion Läsionen einer proliferativen Enteropathie aufweisen, finden LAWSON et al. (1988) mittels eines Immunfluoreszenztests im Blut IgM Antikörper. KNITTEL et al. (1998) zeigen, dass nach künstlicher Infektion mit *L. intracellularis* (Alter drei oder sieben Wochen) 90% der Tiere 21 Tage bzw. 28 Tage nach der Infektion im Serum

Antikörper (IFAT auf IgG) gegen *L. intracellularis* aufweisen, wohingegen der Erreger im Verlauf des Experiments nur bei 39% der Tiere mittels PCR im Kot nachweisbar ist. Bei der pathohistologischen Untersuchung (21-42 Tage alt) ist der Erreger bei 47% mittels PCR im Ileum nachweisbar. Auch Tiere einer Gruppe, welche nach der künstlichen Infektion zu keinem Zeitpunkt mittels PCR positiv auf *L. intracellularis* getestet werden und keine pathohistologischen Läsionen einer PPE aufweisen, weisen 28 Tage nach der Infektion zu 100% Antikörper auf (KNITTEL et al., 1998). GUEDES et al. (2002c) zeigen, dass Schweine, welche mittels Immunhistochemie oder PCR (Kot) positiv auf *L. intracellularis* getestet werden, 28 Tage nach künstlicher Infektion zu 91,2% im IFAT positiv für Antikörper gegen *L. intracellularis* sind. Der Nachweis von IgG Antikörpern nach der künstlichen Infektion stimmt zudem abhängig vom benutzten Verfahren zu 78% oder 83% mit dem Vorhandensein charakteristischer makroskopischer Läsionen überein. Das Vorhandensein von IgG Antikörpern gegen *L. intracellularis* weist somit auf eine vorherige Exposition gegenüber dem Erreger und auf das Vorhandensein makroskopischer Läsionen hin (GUEDES et al., 2002c). Es zeigt sich jedoch eine geringe Übereinstimmung zwischen der Höhe der Titer und dem Grad der makroskopischen Läsionen (GUEDES et al., 2002c). In einer weiteren Studie vergleichen GUEDES et al. (2002a) IFAT und IPMA anhand von Serumproben künstlich infizierter Schweine (n=28) in wöchentlichen Abständen beginnend an Tag 0 bis Tag 28. Dabei zeigt sich eine Übereinstimmung zwischen beiden Tests von 98,6%. CORZO et al. (2005) vergleichen IFAT und IPMA anhand von 523 Serumproben aus 29 Schweineherden in Ontario (Kanada). Die Proben werden dabei in unterschiedlichen Laboren untersucht. Im IFAT sind dabei 59,8% der Proben positiv, im IPMA 21%. Bei einem Vergleich zwischen IPMA und ELISA von WATTANAPHANSAK et al. (2008) zeigt sich eine Übereinstimmung von 95,08% (Proben nach künstlicher Infektion) bzw. 90,65% (Feldproben) zwischen den beiden Tests, wobei der ELISA eine Sensitivität von 89,8% bei einer Spezifität von 99,4% aufweist.

1.6.6.2. Detektion im Kot

KNITTEL et al. (1997) untersuchen mittels PCR Kottupfer von künstlich mit unterschiedlichen Mengen von *L. intracellularis* infizierten Schweinen. In der Gruppe mit der höchsten Infektionsdosis findet sich dabei am Ende der Studie

(Tag 24 nach Infektion) in 25% der Kottupfer *L. intracellularis* – jedoch zu 100% bei Tupfern, die direkt von der Darmmukosa entnommen werden (KNITTEL et al., 1997). Bei den Tiergruppen, die mit geringeren Dosen infiziert werden, treten ähnliche Ergebnisse auf. Die Autoren schlussfolgern, dass somit keine kontinuierliche Ausscheidung des Erregers stattfindet und die Resultate der PCR aus Kot somit von Stadium und Schweregrad der Infektion abhängen (KNITTEL et al., 1997). Nach künstlicher Infektion (n=40) werden in einer Studie von GUEDES et al. (2002c) die Erreger mittels PCR bzw. IPX im Kot detektiert. Dabei weisen die PCR respektive IPX eine Sensitivität von 71,1% bzw. 76,3% an Tag 14, 60,5% bzw. 89,5% an Tag 21 und 37,5% bzw. 50,5% an Tag 28 auf, wobei ein Tier als positiv definiert wird, wenn es mindestens einmal in der PCR (Kot) oder in der IHC aus Darmgewebe positiv getestet wird (GUEDES et al., 2002c). Die höhere Sensitivität der IPX wird dabei von den Autoren auf die Beeinträchtigung der PCR durch Inhibitionsfaktoren im Kot zurückgeführt (GUEDES et al., 2002c). In einer Studie von LINDECORONA et al. (2002) weist eine PCR aus Kotproben im Vergleich zur IHC eine Sensitivität von 97% bei einer Spezifität von 85% auf, die ausschließlich in der PCR positiven Tiere weisen dabei keine oder schon verheilte makroskopische Läsionen einer PPE auf.

1.6.6.3. Detektion im Gewebe

MARSTELLER et al. (2001) weisen bei 19/40 künstlich infizierten Tieren 28 Tage nach künstlicher Infektion mittels Warthin-Starry (WS) Färbung den Erreger nach, mittels IHC gelingt ein Nachweis bei 33/40 Tieren. In einer Studie von GUEDES et al. (2002c) weist die histologische Untersuchung 28 Tage nach künstlicher Infektion der Tiere eine Sensitivität von 36,8% (Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung), bzw. 50% (WS-Färbung) und bei Durchführung einer IHC eine Sensitivität von 86,8% auf, die Tiere werden dabei als positiv definiert, wenn sie mindestens einmal in der PCR (Kot) oder IHC positiv getestet werden. HUERTA et al. (2003) vergleichen die Spezifität und Sensitivität verschiedener Methoden zur Diagnose von PPE aus Darmabschnitten im Vergleich zur PCR von Darmmukosa (n=77). Dabei weist die makroskopische Untersuchung eine Sensitivität von 66,6% bei einer Spezifität von 50% auf, die histologische Untersuchung (HE Färbung) eine Sensitivität von 44,4% bei einer Spezifität von 98,5% bzw. von 62,5% respektive 88% (WS-Färbung) auf (HUERTA et al., 2003). Die immunhistologische Untersuchung (IFAT) zeigt im Vergleich zur PCR

die höchste Sensitivität (89%) und Spezifität (97%) aller verglichenen Methoden (HUERTA et al., 2003). JENSEN et al. (2010) vergleichen die Sensitivität und Spezifität von IHC und ISH anhand von Darmabschnitten mit und ohne makroskopischen PPE Läsionen. Dabei weist die IHC eine Sensitivität und Spezifität von 100% auf, die ISH eine Sensitivität von 91% bei einer Spezifität von 100% (JENSEN et al., 2010).

1.6.6.4. Einfluss antibiotischer Behandlungen

MARSTELLER et al. (2001) weisen bei 40 unbehandelten künstlich infizierten Tieren 28 Tage nach der Infektion bei 33/40 Tieren den Erreger mittels IHC im Darm nach, während nur zwölf von 33 PCRs aus Kot positiv sind. Bei Tieren, welche ab Tag 14 der Studie eine Tylosinbehandlung (drei Tage) erhalten haben, sind deutlich weniger Tiere (IHC 2/40, PCR 5/38) positiv (MARSTELLER et al., 2001). In einer Studie von SCHWARTZ et al. (1999) scheidet in einer Gruppe von Schweinen, welche mit Tiamulin behandelt werden, im Vergleich zur Kontrollgruppe eine geringere Anzahl von Tieren 21 Tage bzw. 28 Tage nach der künstlichen Infektion den Erreger aus.

1.7. Prophylaxe und Therapie der porzinen proliferativen Enteropathie

1.7.1. Orale Vakzination mit einer *L. intracellularis* Lebendvakzine (Enterisol® Ileitis)

1.7.1.1. Infektionsversuche

KROLL et al. (2004) beschreiben einen oralen Lebendimpfstoff (Stamm B3903), welcher auf einem *L. intracellularis* Stamm basiert, der aus einem an PHE erkrankten dänischen Schwein isoliert wurde. In der Studie wird drei Wochen alten Schweinen (n=15) der Impfstoff direkt in die Maulhöhle verabreicht, und die Tiere werden im Alter von sechs Wochen künstlich mit einem pathogenen *L. intracellularis* Isolat infiziert (KROLL et al., 2004). Dabei weisen geimpfte Tiere im Vergleich zu ungeimpften Tieren für den Zeitraum nach der Infektion signifikant höhere Tageszunahmen auf (730g vs. 660g) während zur Negativkontrolle (n=10) kein signifikanter Unterschied besteht (730g vs. 740g) (KROLL et al., 2004). An Tag 14 und 21 nach dem Challenge scheiden zudem weniger geimpfte Tiere den Erreger aus (33% vs. 80% bzw. 0% vs. 40%). Die geimpften Tiere weisen außerdem signifikant weniger makroskopische Läsionen

in Ileum und Colon auf (KROLL et al., 2004). Auch in der IHC finden sich bei den geimpften Tieren weniger Läsionen als bei den Ungeimpften (KROLL et al., 2004). In einem zweiten Versuch mit identischem Aufbau werden 20 Tiere direkt in die Maulhöhle geimpft, sowie weitere 20 Tiere mittels Trögen über das Trinkwasser. Es zeigen sich dabei bei den Impfgruppen im Vergleich zur Positivkontrolle (n=20) im Mittel weniger makroskopische Läsionen in Ileum und Colon sowie weniger mikroskopische Läsionen in Ileum (beide Impfgruppen) und Colon (nur Trinkwasser Geimpfte) (KROLL et al., 2004). Zudem ist ein geringerer Anteil der Gewebeschnitte (Ileum) geimpfter Tiere in der IHC positiv (KROLL et al., 2004). Nach Impfung von fünf Wochen alten Tieren (n=10) mit einem oralen Lebendimpfstoff (Stamm B3903 / Enterisol® Ileitis) beschreiben GUEDES und GEBHART (2003) das Einsetzen einer Immunantwort unter Bildung von Interferon- γ bildenden T-Zellen und von gegen *L. intracellularis* gerichteten Antikörpern (IgG). In einer Studie von NOGUEIRA et al. (2013) scheiden mit der Standarddosis an Enterisol® Ileitis geimpfte Tiere (n=10) 14 Tage und 17 Tage nach künstlicher Infektion signifikant geringere Mengen des Erregers aus als nicht geimpfte Tiere (n=10).

1.7.1.2. Serokonversion nach Impfung

GUEDES und GEBHART (2003) beschreiben nach Impfung von fünf Wochen alten Schweinen (n=10) mit Enterisol® Ileitis eine Serokonversion (IgG) beginnend fünf Wochen nach Impfung. Im weiteren Verlauf kann man im Alter von sieben bis neun Wochen bei allen Tieren Antikörper nachweisen (GUEDES & GEBHART, 2003). In zwei Studien (n=35, n=73) von KROLL et al. (2004) finden die Autoren 21 Tage bzw. 28 Tage nach der Impfung keine Antikörper gegen *L. intracellularis*, wobei aufgrund der erfolgten künstlichen Infektion an Tag 21 keine Aussagen über eine mögliche spätere Serokonversion aufgrund der Impfung gemacht werden können. NATHUES und GROSSE BEILAGE (2008) impfen drei Gruppen von je 50 Tieren mit Enterisol® Ileitis und untersuchen 20 Blutproben sieben Tage und 21 Tage nach der Impfung mittels ELISA auf Antikörper gegen *L. intracellularis* (IgG). Bei zwei von drei Gruppen zeigt sich dabei 21 Tage nach Impfung keine Serokonversion (NATHUES & GROSSE BEILAGE, 2008).

1.7.1.3. Ausscheidung des Impferregers

Nach Impfung von fünf Wochen alten Schweinen (n=10) mit Enterisol® Ileitis weisen GUEDES und GEBHART (2003) für bis zu neun Wochen nach der Infektion im Kot mittels PCR *L. intracellularis* nach. KROLL et al. (2004) finden nach Impfung von drei Wochen alten Tieren (n=10) jedoch keine *L. intracellularis* im Kot.

1.7.1.4. Ergebnisse von Feldstudien

1.7.1.4.1. Australien

McORIST und SMITS (2007) beschreiben den Einsatz von Enterisol® Ileitis in drei australischen Schweinebeständen. Der Impfstoff wird hierbei in der fünften Lebenswoche über das Trinkwasser appliziert. Die Autoren beobachten in allen Beständen eine Verbesserung der Tageszunahmen von der achten bis 22. Woche gegenüber der ungeimpften Kontrollgruppe (Betrieb 1 830g vs. 790g, Betrieb 2 790 vs. 760g, Betrieb 3 850g vs. 700g). In einem Betrieb zeigt sich in der geimpften Gruppe gegenüber der Kontrolle zudem eine deutlich geringere Mortalität (4,2% vs. 11,2%) sowie eine verbesserte Futterverwertung (3,5 kg/kg vs. 3,1 kg/kg) (McORIST & SMITS, 2007). In Betrieb 3 treten zudem keinerlei PPE bedingte Todesfälle in der geimpften Gruppe auf, wohingegen die Kontrollgruppe eine hohe PPE bedingte Mortalität aufweist (McORIST & SMITS, 2007).

1.7.1.4.2. Dänemark

In einer dänischen Studie werden abwechselnd (drei Wochen Rhythmus) acht von 16 Partien mit ca. 1000 Schweinen mit Enterisol® Ileitis über das Trinkwasser geimpft (BAK & RATHKJEN, 2009). Die Autoren zeigen, dass bei den geimpften Tieren eine signifikant geringere Anzahl an Schweinen mit Oxytetracyclin gegen PPE behandelt werden muss, in Bezug auf die Partien ist dieser Effekt jedoch nicht signifikant (BAK & RATHKJEN, 2009).

1.7.1.4.3. Deutschland

NATHUES und GROSSE BEILAGE (2008) impfen drei Gruppen von je 50 Tieren mit Enterisol® Ileitis. In der ersten Gruppe wird der Impfstoff zu Beginn der Mast über das Trinkwasser appliziert (ca. elfte Woche), bei den beiden weiteren Gruppen werden die Tiere in der achten bis neunten Woche mittels

Applikator direkt in die Maulhöhle geimpft. In der ersten Gruppe zeigen die Tiere 21 Tage nach Impfung eine Serokonversion, wohingegen die Tiere der beiden anderen Gruppen seronegativ sind (NATHUES & GROSSE BEILAGE, 2008). Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen geimpften und ungeimpften Kontrolltieren bzgl. des Zuwachses in der Mast (Gruppe 1 72,4kg vs. 73,3kg, Gruppe 2 75,9kg vs. 75,2kg, Gruppe 3 75,2kg vs. 77,1kg) (NATHUES & GROSSE BEILAGE, 2008). DEITMER et al. (2011) vergleichen in einer Feldstudie chronologisch die Leistungsparameter von Schweinen mit und ohne Impfung gegen *L. intracellularis*. Sie vergleichen hierbei 43 Mastdurchgänge mit 23000 Tieren, es zeigt sich, dass die geimpften Tiere signifikant bessere Tageszunahmen (811g vs. 780g) und eine verbesserte Futtermittelverwertung (2,80 vs. 2,96) aufweisen, zudem müssen bei den ungeimpften Tieren signifikant mehr Antibiotika eingesetzt werden (DEITMER et al., 2011).

1.7.1.4.4. Schweiz

In einer Studie von CASPARI et al. (2009) werden ungefähr drei Wochen alte Ferkel (n=279) durch Drenchen mit Enterisol® Ileitis geimpft. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=256) erzielen die geimpften Tiere in der Aufzucht höhere Tageszunahmen (371g vs. 338g), auch in der Mast zeigen die geimpften Tiere höhere Zunahmen (795g vs. 777g). In der geimpften Gruppe gibt es zudem bei der Schlachtung weniger Tiere mit einem Schlachtkörpergewicht <80kg (51,8% vs. 41,7%) (CASPARI et al., 2009). In einer Studie von WEIBEL et al. (2012) werden in einem Schweizer Ferkelerzeugerbetrieb ungefähr 23,5 Tage alte Ferkel (n=1405) mit verschiedenen Impfreimen (*L. intracellularis*, *L. intracelluaris* und PCV2, PCV2, Kontrolle) geimpft und dann während der Aufzucht und weiter in der Mast beobachtet. Dabei zeigt sich, dass die nur gegen *L. intracellularis* geimpften Tiere in der Mast höhere Tageszunahmen aufweisen als die Kontrollgruppe (774g vs. 751g) und die gegen PCV2 und *L. intracellularis* geimpften Tieren höhere Zunahmen aufweisen als die nur gegen PCV2 geimpften (792g vs. 772g) (WEIBEL et al., 2012). Die beiden gegen *L. intracellularis* geimpften Gruppen weisen zudem in der Mast eine niedrigere Mortalität im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (6,3% Kontrolle vs. 2,3% *L. intracellularis* vs. 1,1% *L. intracellularis* und PCV2) (WEIBEL et al., 2012).

1.7.1.4.5. Ungarn

ALMOND und BILKEI (2006) beschreiben den Einsatz von Enterisol[®] Ileitis über das Trinkwasser in einem ungarischen Bestand mit 8400 Mastschweinen und einer Historie von PPE bedingten Verlusten. Es werden dabei vier Tage nach Einstellung in die Mast 4112 Tiere über das Trinkwasser vakziniert. Bei 5% der Tiere werden drei Wochen nach Einstellung in die Aufzucht Blutproben entnommen und mittels IFAT auf Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht, die identischen Tiere werden vier Wochen nach der Einstellung in die Mast erneut beprobt (ALMOND & BILKEI, 2006). Dabei weisen sowohl vor als auch nach der Impfung alle Tiere Antikörper gegen *L. intracellularis* auf (ALMOND & BILKEI, 2006). Die geimpften Tiere erreichen dabei während der Mast gegenüber der Kontrolle (n=4188) deutlich verbesserte Tageszunahmen (780g vs. 660g) und eine geringere Mortalität als nicht vakzinierte Tiere (0,2% vs. 14,9%). Es reduziert sich auch die nicht PPE bedingte Mortalitätsrate signifikant (1,4% vs. 2,6%) (ALMOND & BILKEI, 2006).

1.7.2. Desinfektionsmittel

In einer Studie von COLLINS et al. (2000) werden verschiedene Desinfektionsmittel in festgelegten Konzentrationen für 30 Minuten mit *L. intracellularis* haltigen Suspensionen (zwei Stämme) vermischt. Danach wird versucht den Erreger in Zellkultur zu vermehren und ermittelt, wie viele stark mit *L. intracellularis* infizierte Zellen es im Vergleich zur Kontrolle gibt. Es zeigt sich dabei, dass 3,3%ige quaternäre Ammoniumverbindungen/Cetrimide und 1%iges Povidon-Jod die Zahl infizierter Zellen am stärksten reduzieren. Eine 0,33%ige Phenollösung zeigt sich dagegen als ineffizient (COLLINS et al., 2000).

1.7.3. Antibiotische Prophylaxe, Metaphylaxe und Therapie der porzinen proliferativen Enteropathie

1.7.3.1. Minimale Hemmkonzentrationen verschiedener Antibiotika gegen *L. intracellularis*

Von McORIST et al. (1995a) wird in Zellkultur die minimale Hemmkonzentration (MHK) von verschiedenen Antibiotika gegen *L. intracellularis* ermittelt (Tabelle 2), es werden dabei je nach Antibiotikum ein bis drei Stämme getestet. YEH et al. (2011) ermitteln in Zellkultur die MHK Werte

von zwei koreanischen *L. intracellularis* Stämmen, welche in den Jahren 2002 bzw. 2010 aus klinisch erkrankten Tieren isoliert werden (Tabelle 2). Dabei zeigt sich, dass das Isolat aus 2010 im Durchschnitt höhere MHK Werte aufweist (YEH et al., 2011).

Tabelle 2: Antibiotikaempfindlichkeit von *L. intracellularis* Isolaten (McORIST et al. 1995, YEH et al. 2011)

	McOrist et al. (1995) intracellular activity assay	Yeh et al. (2011)	
Isolat	diverse	KR 2002	KR 2010
Ampicillin	1	0,5	2-4
Bacitracin	>32	>128	>128
Ceftiofur	>8	-	-
Chlortetracyclin	1	2-4	8
Enrofloxacin	8	2	2-4
Gentamicin	>128	>128	>128
Lincomycin	32	16	>128
Penicillin G	1	1-2	4
Spectinomycin	32	8-16	32
Tilmicosin	2	0,125	0,125
Tiamulin	4	0,25-0,5	2
Tylosin	64	0,25-0,5	0,25

1.7.3.2. Studien zum Einsatz von Antibiotika

1.7.3.2.1. Tiamulin

McORIST et al. (1996a) verabreichen sechs Schweinen beginnend zwei Tage vor der künstlichen Infektion 2,5mg/kg Tiamulin und sieben anderen Tieren sieben Tage nach der Infektion 7,5mg/kg Tiamulin bis zur Euthanasie der Tiere drei Wochen nach der Infektion. Bei beiden Behandlungsgruppen zeigen sich weder pathomorphologisch noch pathohistologisch Läsionen einer PPE und sowohl die

prophylaktisch behandelten Tiere (362g) als auch die therapeutisch behandelten Tiere (295g) zeigen deutlich bessere Tageszunahmen als die unbehandelte Kontrolle (248g) (McORIST et al., 1996a). SCHWARTZ et al. (1999) setzen beginnend sieben Tage vor künstlicher Infektion bis Tag 28 nach der Infektion Tiamulin über das Futter (35g/t bzw. 50g/t) ein. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle weisen diese Tiere nach Sektion (28d) weniger makroskopische und mikroskopische Läsionen einer PPE und zudem einen besseren „klinischen Score“ und „Durchfallscore“ auf (SCHWARTZ et al., 1999). Bei Einsatz von Tiamulin (32ppm) über das Futter für 42 Tage bei 25 Tage alten Tieren in einem Bestand mit chronischen und akuten PPE Problemen beobachteten PAPATSIROS et al. (2009) eine Verbesserung des „Durchfallscores“, der täglichen Zunahmen (420g vs. 406g) sowie der Futterverwertung (1,58 vs. 1,75) gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe.

1.7.3.2.2. Tylosin

In einem Infektionsversuch verabreichen McORIST et al. (1997b) Tylosin als Prophylaxe beginnend vier Tage vor der künstlichen Infektion in Dosierungen von 100 mg/kg bzw. 40mg/kg für 20 Tage und dann für weitere zwölf Tage in Dosierungen von 40mg/kg bzw. 20mg/kg. Bei beiden Dosierungen zeigen sich pathohistologisch keine Veränderungen einer PPE, und die Tageszunahmen sind gegenüber der infizierten Kontrollgruppe stark verbessert (McORIST et al., 1997b). Auch eine Therapie mit 100mg/kg Tylosin für 21 Tage beginnend sieben Tage nach der künstlichen Infektion weist gleiche Effekte auf (McORIST et al., 1997b). MARSTELLER et al. (2001) verabreichen in einem Infektionsversuch (n=80) Tylosin (4mg/0,45kg) intramuskulär beginnend an Tag 14 nach der künstlichen Infektion für drei Tage. Dabei zeigen sich 28 Tage nach der künstlichen Infektion im Vergleich zur Kontrollgruppe ein verringerter „Durchfallscore“, ein höherer Zuwachs (9,26kg vs. 5,41kg) und ein verbesserter „klinischer Score“ (MARSTELLER et al., 2001).

1.7.3.2.3. Lincomycin / Lincomycin-Spectinomycin

Ein Einsatz von 10mg/kg einer Lincomycin-Spectinomycin Kombination über das Trinkwasser für sieben oder 14 Tage führt laut McORIST et al. (2000) zu einer signifikanten Verbesserung von Tageszunahmen und Kotscores gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe und stoppt zudem die Ausscheidung des Erregers.

Es zeigen sich dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen einer Behandlungsdauer von sieben oder 14 Tagen (McORIST et al., 2000). Nach künstlicher Infektion von Tieren in zwei Betrieben (n=312) setzen WINKELMAN et al. (2002) sieben Tage nach der Infektion Lincomycin in zwei Dosierungen (44ppm / 110ppm) über das Futter ein. Die Tiere zeigen in dieser Studie zum Zeitpunkt der Behandlung bereits Durchfälle. Es zeigen sich dabei in beiden Dosierungen ein geringerer „Durchfallscore“, ein verbesserter „klinischer Score“, sowie eine verbesserte Futterverwertung und höhere Tageszunahmen (WINKELMAN et al., 2002). In der hohen Dosierung zeigt sich zudem eine deutlich niedrigere PPE bedingte Mortalität (7,1% vs. 12,7%) (WINKELMAN et al., 2002). BRADFORD et al. (2004) setzen bei fünf Wochen alten Schweinen fünf Tage nach künstlicher Infektion für zehn Tage Lincomycin über das Trinkwasser in Konzentrationen von 33,3mg/l bzw. 66,6mg/l ein. Dabei zeigt sich bei beiden Dosierungen im Vergleich zur Kontrolle eine Verbesserung der Kotkonsistenz und des „Abdomen Score“. In der Gruppe mit der höheren Dosis gibt es zusätzlich eine Verringerung der Mortalität und eine Verringerung der Anzahl der Durchfalltage (BRADFORD et al., 2004). Die täglichen Zunahmen sind in der Gruppe mit höherer Dosierung während der Behandlung signifikant verbessert, fallen dann jedoch unter das Niveau der Kontrollgruppe ab, so dass sich über die gesamte Beobachtungsperiode (10d Behandlung / 13d nach Behandlung) kein Unterschied ergibt (BRADFORD et al., 2004).

1.7.3.2.4. Tetracycline

Der prophylaktische Einsatz von Chlortetracyclin in Dosierungen von 16,9mg/kg oder 39,6mg/kg beginnend vier Tage vor der künstlichen Infektion verhindert das Auftreten von Durchfall und führt zu einer Verbesserung von Tageszunahmen und Futterverwertung (McORIST et al., 1999b).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Bestand

1.1. Versuchshypothese

Ziel der vorliegenden Studie war es folgende Hypothesen zu prüfen:

Eine Impfung mit Enterisol® Ileitis bewirkt auch dann einen Leistungsvorteil in Form höherer Tageszunahmen für die geimpfte Tiergruppe gegenüber einer ungeimpften Kontrollgruppe, wenn ein Teil der Tiergruppe bereits vor dem Aufbau der Immunität mit *L. intracellularis* infiziert ist.

Unter den vorliegenden Bedingungen mit Enterisol® Ileitis geimpfte Tiere weisen einen höheren Muskelfleischanteil, ein höheres Fleischmaß und ein niedrigeres Speckmaß auf als nicht geimpfte Tiere.

1.2. Versuchszeitraum

Die Voruntersuchungen zur Betriebsauswahl erfolgten von April bis Mai 2012. Der Versuch wurde von Juni 2012 bis März 2013 durchgeführt.

1.3. Versuchsbetrieb

Bei dem ausgewählten Versuchsbetrieb handelt es sich um einen geschlossenen Betrieb in Baden-Württemberg. Der Betrieb produziert im drei Wochen Rhythmus Absetzferkel. Das Absetzen der Ferkel erfolgt im Alter von ungefähr vier Wochen. Während des Versuchszeitraums erfolgte ein Wechsel der Sauengenetik von baden-württembergischen Hybridsauen (Deutsche Landrasse x Large White) zu dänischen Hybridsauen (Yorkshire x Landrasse). Es erfolgt eine Impfung der Ferkel im Alter von zwei Wochen gegen das *porzine reproduktive und respiratorische Syndrom Virus* (PRRSV) (2ml Porcilis® PRRS, Intervet Deutschland GmbH) sowie mit drei Wochen gegen *porzines Circovirus Typ 2* (Ingelvac® CircoFLEX™, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) und *Mycoplasma hyopneumoniae* (Ingelvac® MycoFLEX™, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH).

1.4. Tierversuchsanzeige

Die Durchführung des Versuchs wurde dem zuständigen Regierungspräsidium

Stuttgart angezeigt (Aktenzeichen 35-9185.82 / 0286).

1.5. Vorabuntersuchungen zur Betriebsauswahl

Gesucht wurde ein Betrieb, bei dem die Infektion mit *L. intracellularis* bei ca. 10-30% der Tiere bereits im Flatdeck (im Alter von ca. sechs bis zehn Wochen) erfolgte. Da zwei bis drei Wochen nach der Infektion Antikörper gegen den Erreger gebildet werden (KNITTEL et al., 1998; GUEDES et al., 2002a), wurden im Vorfeld zur Bestimmung des Infektionszeitpunkts mit *L. intracellularis* je zehn Blutproben im Alter von sieben und 19 Wochen und je 20 Blutproben im Alter von zehn, 13 und 16 Wochen entnommen und mittels ELISA (Ileitis-Antikörper ELISA, bioscreen) auf Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht. Zusätzlich erfolgte eine Untersuchung auf das PRRSV, um eine mögliche Infektion zu detektieren. Dazu wurden bei den zehn und 16 Wochen alten Tieren jeweils fünf Blutproben „gepoolt“ und mittels PCR untersucht. Zudem wurde eine Untersuchung auf Antikörper gegen das Influenza A Virus mittels ELISA im Alter von 19 Wochen durchgeführt. Zur Bestätigung der Ergebnisse wurden beim nächsten Durchgang im Alter von elf und 13 Wochen nochmals 60 Blutproben entnommen und mittels ELISA auf Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht. Zudem wurden jeweils drei Sammelkotproben von zehn und 13 Wochen alten Tieren sowie jeweils zwei Sammelkotproben von 16 und 19 Wochen alten Tieren entnommen und mittels PCR auf das Vorhandensein von *Brachyspira hyodysenteriae* und *Brachyspira pilosicoli* untersucht.

2. Versuchsablauf

2.1. Versuchsdurchgänge und Tierzahl

Der Versuch gliederte sich in zwei aufeinanderfolgende Versuchsdurchgänge. Bei Versuchsdurchgang 1 wurden 356 Ferkel aus 29 Würfen in die Studie eingeschlossen, bei Versuchsdurchgang 2 waren es 304 Ferkel aus 29 Würfen. Der Einschluss der Tiere (Studientag 0) erfolgte jeweils am Tag des Absetzens mit einem Alter von ca. 28 Tagen. Die beiden Versuchsdurchgänge wurden in einem zeitlichen Abstand von sechs Wochen durchgeführt. Es wurde hierbei eine Abferkelgruppe ausgelassen, um eine identische Aufstallung der Tiere aus Versuchsdurchgang 1 und 2 zu ermöglichen. Zunächst wurden alle Tiere mit Hilfe einer Plateauwaage gewogen und dann wurfweise anhand des Gewichts auf zwei Behandlungsgruppen (Gruppe A, Gruppe B) randomisiert aufgeteilt. Die Tiere der

Behandlungsgruppe A wurden im Alter von sieben Wochen (Tag 21) gegen *L. intracellularis* geimpft, die Tiere der Gruppe B fungierten als Kontrollgruppe und erhielten keine Impfung. Da sich zum Zeitpunkt des Versuchs Sauen mit unterschiedlicher genetischer Herkunft im Bestand befanden, war eine wurfweise Randomisierung zwingend erforderlich. Die Tiere wurden mit einer elektronisch auslesbaren Ohrmarke (iQ Agrarservice GmbH, Osnabrück) individuell gekennzeichnet. Zusätzlich erfolgte eine Zuordnung zu den einzelnen Behandlungsgruppen bzw. Versuchsdurchgängen mittels unterschiedlich farbig markierter Ohrmarkengegenstücke (iQ Agrarservice GmbH, Osnabrück). Jede Ohrmarke besitzt einen individuellen Transpondercode, mit welchem das Tier über ein Handlesegerät für den Rest der Studie jederzeit sicher zugeordnet werden konnte.

2.1.1. Aufstallung der Versuchstiere

Die abgesetzten Ferkel des jeweiligen Versuchsdurchgangs wurden getrennt nach Behandlungsgruppen (Gruppe A, Gruppe B) in zwei identische konventionelle Flatdeckabteile mit jeweils zwei Buchten mit Kunststoffvollspaltenboden aufgestellt. Im Alter von neun Wochen erfolgte eine Umstallung in ein gemeinsames Vormastabteil mit Betonvollspaltenboden. Hier wurden die Tiere nach den jeweiligen Behandlungsgruppen auf vier durch geschlossene Kunststoffwände getrennte Buchten aufgeteilt. Mit 15 Wochen erfolgte die Umstallung in die Mast, hier wurden die Tiere getrennt nach Behandlungsgruppen in Buchten mit jeweils ungefähr 15 Tieren aufgestellt. Aufgrund von beengten Platzverhältnissen wurde in Versuchsdurchgang 1 bereits vorher ein Teil der Tiere (n=119) von der Vormast in die Endmast umgestallt, dabei wurde eine Trennung der jeweiligen Behandlungsgruppen sichergestellt. Es stammten dabei 62 Tiere aus Gruppe A und 57 Tiere aus Gruppe B.

2.1.2. Applikation des Impfstoffs gegen *L. intracellularis*

An Versuchstag 21, im Alter von sieben Wochen, wurde den Tieren der Behandlungsgruppe A des jeweiligen Versuchsdurchgangs der Impfstoff gegen *L. intracellularis* (Enterisol® Ileitis, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) appliziert. Laut Voruntersuchungen waren sechs Wochen nach diesem Zeitpunkt bereits 13-25% der Tiere positiv. Es wurden 2ml des Impfstoffs mittels eines vom Hersteller mitgelieferten Applikators bei jedem Tier tief in die Maulhöhle

eingbracht. Die Applikation erfolgte zeitlich nach der Wiegung der jeweiligen Behandlungsgruppe B und der Tierhalter wurde instruiert, bei der täglichen Arbeit zunächst das Abteil der ungeimpften Gruppe zu betreten und die Stiefel zwischen den beiden Abteilen zu wechseln, um eine Verschleppung des Lebendimpfstoffs zu verhindern.

3. Datenerhebung

3.1. Schlachtkörperklassifikation

An den jeweiligen Schlachtterminen wurden die elektronischen Ohrmarken direkt am Schlachtband mittels eines Handlesegeräts (iQ Agrarservice GmbH, Osnabrück) ausgelesen und die individuelle Ohrmarke der entsprechenden Schlachtnummer zugeordnet. Somit konnte den erfassten Tieren aus dem Schlachtprotokoll der jeweilige Schlachtbefund zugeordnet werden. Da durch den Schlachtprozess bereits vor der Zuordnung der Schlachtnummer bei Tieren ein Verlust von Ohrmarken auftrat, konnten jedoch nicht alle Tiere erfasst werden. Die durch den Schlachthof erfassten Parameter umfassten das Schlachtgewicht, das Fleischmaß, das Speckmaß sowie den Magerfleischanteil und die Handelsklasse des Schlachtkörpers.

3.2. Gewichte

Die Gewichte der Einzeltiere beider Versuchsdurchgänge wurden jeweils im Alter von vier (Tag 0 bzw. Einschluss), sieben (Tag 21 bzw. Impfung), zehn (Tag 40), 15 (Tag 77) und 21 (Tag 124) Wochen bestimmt. Da im ersten Versuchsdurchgang ein Teil der Tiere vor dem letzten Wiegezeitpunkt seitens des Betriebsleiters in ein anderes Abteil umgestallt wurde, mussten diese Tiere (n=24) hinsichtlich des Parameters Gewichtszunahme für den letzten Versuchsabschnitt von Tag 77 bis Tag 124 bzw. für die Gesamtzunahme von Tag 0 bis Tag 124 aus der Studie ausgeschlossen werden. Eine Nachwiegung dieser Tiere im Alter von 23 Wochen (Tag 140) mit anschließender ungefähre Rückrechnung der Gewichte anhand des durchschnittlichen Gewichtszuwachses der Gruppe und Einbeziehung der Daten in die Statistik ergab keine signifikanten Unterschiede zu den vorliegenden Ergebnissen. Die Erfassung der Gewichte erfolgte mit Hilfe einer Plateauwaage (Tag 0) bzw. einer mobilen Einzeltierwaage (restliche Wiegezeitpunkte).

3.3. Blutproben / Serologie

Im Alter von vier (Tag 0), sieben (Tag 21), zehn (Tag 40), zwölf (Tag 62), 15 (Tag 77), 18 (Tag 99) und 21 (Tag 124) Wochen wurden von jeweils 20% der Tiergruppe Blutproben entnommen und untersucht, dabei wurde anhand der Randomisierungsliste an Tag 0 jedes fünfte Tier ausgewählt (n=130) und diese Tiere dann im Laufe des Versuchs mehrfach beprobt. Da im ersten Versuchsdurchgang ein Teil der Tiere vor dem letzten Entnahmezeitpunkt seitens des Betriebsleiters in ein anderes Abteil umgestallt wurde, wurden diese Tiere mit 23 Wochen beprobt. Die Blutprobenentnahme erfolgte mittels einer Serummonovette aus der Vena jugularis bzw. Vena cava cranialis. Nach der Entnahme wurden die Röhrchen abzentrifugiert, der Überstand in Eppendorfgefäße abpipettiert und diese bis zur weiteren Untersuchung bei -20°C tiefgefroren. Nach Ende des Versuchs wurden die Blutproben mittels ELISA (BioScreen Ileitis Antikörper ELISA) bei der Bioscreen European Veterinary Disease Management Center GmbH, Hannover auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *L. intracellularis* untersucht. In Übereinstimmung mit den Angaben des Herstellers wurde hierbei eine Probe mit einem inhibitorischen Prozentwert ≥ 30 als positiv bewertet, eine Probe von 20-29 als fraglich und Proben <20 als negativ.

3.4. Kotproben

Im Alter von vier (Tag 0), sieben (Tag 21), zehn (Tag 40), zwölf (Tag 62), 15 (Tag 77), 18 (Tag 99) und 21 (Tag 124) Wochen wurden in beiden Versuchsdurchgängen Kotproben entnommen. Da im ersten Versuchsdurchgang ein Teil der Tiere vor dem letzten Entnahmezeitpunkt seitens des Betriebsleiters in ein anderes Abteil umgestallt wurde, wurden diese Tiere mit 23 Wochen beprobt. Im ersten Versuchsdurchgang wurden insgesamt 40 Tiere untersucht, (26 Gruppe A, 14 Gruppe B), in Versuchsdurchgang 2 wurden insgesamt 32 Tiere untersucht (17 Gruppe A, 15 Gruppe B). Die Kotproben wurden direkt aus dem Rektum entnommen und in Kunststoffröhrchen verbracht. Die Proben wurden bis zur weiteren Untersuchung bei -20°C gelagert. Die Untersuchung der Proben erfolgte mittels quantitativer rtPCR am Institut für Pathologie und Gerichtliche Veterinärmedizin der Vetmeduni Vienna, Wien. Außerdem wurde eine Stichprobe von insgesamt 49 Proben zusätzlich mittels einer weiteren quantitativen rtPCR (NATHUES et al., 2009) an der Außenstelle für Epidemiologie, Stiftung

Tierärztliche Hochschule Hannover untersucht. Zusätzlich wurden zu Beginn des Versuchs im Alter von vier Wochen (Tag 0) sowie im Alter von 15 Wochen (Tag 77) und 21 Wochen (Tag 124) Kottupfer entnommen und diese in AMIES Medium zur kulturellen Untersuchung auf *Brachyspira spp.* und *Salmonella spp.* zum Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover gesandt.

3.4.1. Quantitative rtPCR zur Detektion von *L. intracellularis*

Die Kotproben wurden am Institut für Pathologie und Gerichtliche Veterinärmedizin der Vetmeduni Vienna, Wien mittels quantitativer rtPCR untersucht. Die Extraktion des Kots erfolgte mittels eines kommerziellen Kits (QIAamp DNA Mini Stool Kit, Qiagen, Venlo, Niederlande) nach Angaben des Herstellers (Protocol for Isolation of DNA from Stool for Pathogen Detection). Für die rtPCR wurden die folgenden Primer verwendet: Lawintrac16SL15739-1387 F (5' gtt ccc ggg cct tgt aca c) und Lawintrac16SL15739-1447 R (5' ccg gct ttg ggt aaa acc a). Als Sonde wurde Lawintrac16SL15739-1407 (5' FAM ccg ccc gtc aca cca cga aa TAMRA) verwendet. Die Zusammensetzung des Mastermix findet sich in Tabelle 3. Die Amplifizierung und Detektion der DNA wurde mittels eines rtPCR Geräts (7500 Fast Real-Time PCR System, Applied Biosystems, Waltham, MA USA) durchgeführt. Initial erfolgte eine Erhitzung auf 95°C für 20 Sekunden, dann folgten 40 Zyklen mit 95°C für 1 Sekunde und 60°C für 30 Sekunden.

Tabelle 3: Zusammensetzung des qPCR Mastermix

Menge	Komponente
10 µl	TaqMan Fast (Real-Time) PCR Universal Master Mix (Applied Biosystems)
0,6µl	H2O
1,2µl	Lawintrac16SL15739-1387 F
1,2µl	Lawintrac16SL15739-1447 R
2,0µl	Bovines Serum Albumin (20 mg/ml 1:100 verdünnt → 20 ng/Reaktion)
2,5µl	Template Kot (1:10), Standard unverdünnt

3.4.2. Nachuntersuchung mit zweiter quantitativer PCR auf *L. intracellularis*

Eine Stichprobe von insgesamt 49 Proben wurde mittels einer weiteren qPCR Methode (NATHUES et al., 2009) (im folgenden Methode 2 genannt) an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Außenstelle für Epidemiologie, Bakum auf *L. intracellularis* untersucht.

3.5. Statistische Auswertung

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Datenauswertung sowie die Diagrammerstellung mit Hilfe der Tabellenkalkulation Excel (Microsoft Office Home and Student 2010, Microsoft Corporation, Redmond, WA USA) und des Textverarbeitungsprogramms Word (Microsoft Office Home and Student 2010, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) sowie der Statistiksoftware SPSS 20.0 (IBM®SPSS Inc., Chicago, IL USA). Die Daten wurden mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors auf Normalverteilung geprüft. Die Nullhypothese besagte, dass kein Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen bzw. den beiden Versuchsdurchgängen hinsichtlich der untersuchten Parameter besteht.

Zum Vergleich der Häufigkeitsverteilung auf Antikörper gegen *L. intracellularis* positiver Blutproben zwischen Impf- und Kontrollgruppe bzw. zwischen den beiden Versuchsdurchgängen an den unterschiedlichen Beprobungszeitpunkten wurde ein Chi-Quadrat Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

Für die Analyse der Mittelwertunterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen (Impfung, Kontrolle) respektive der jeweiligen Durchgänge hinsichtlich der normalverteilten Parameter Gewichtszunahme in den einzelnen Versuchsabschnitten, *L. intracellularis* Genomkopien/g Kot, Fleischmaß, Speckmaß und Muskelfleischanteil wurde ein T-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

IV. ERGEBNISSE

1. Voruntersuchung zur Betriebsauswahl

1.1. Antikörper gegen *L. intracellularis*

Bei den zur Bestimmung des Infektionszeitpunkts entnommenen Blutproben werden beim ersten Beprobungstermin im Alter von sieben Wochen bei keinem Tier mittels ELISA Antikörper gegen *L. intracellularis* nachgewiesen. Im Alter von zehn Wochen weisen fünf Prozent der beprobten Tiere ein positives Ergebnis und fünf Prozent ein fragliches Ergebnis auf. Im Alter von 13 Wochen steigt der Anteil positiver Proben auf 25% und der Anteil fraglicher Proben auf 20%. Bei den 16 Wochen alten Tieren sind 90% der Proben als positiv und weitere fünf Prozent als fraglich zu bewerten. Der Anteil positiver Proben sinkt dann im Alter von 19 Wochen auf 60% ab, 20% der Proben sind dabei als fraglich zu bewerten. Beim nächsten Beprobungstermin (Partie 2) sind im Alter von elf Wochen 1,66% der Proben als positiv und 1,66% als fraglich zu bewerten, dieser Anteil steigt im Alter von 13 Wochen auf 13,33% positive und 10% fragliche Blutproben an (Tabelle 4).

Tabelle 4: Ergebnisse der Voruntersuchung auf Antikörper gegen *L. intracellularis*

Untersuchung (Partie)	1					2	
Alter (Wochen)	7	10	13	16	19	11	13
Probenzahl	10	20	20	20	10	60	60
positiv	0	1	5	18	6	1	8
Anteil	0%	5%	25%	90%	60%	1,66%	13,33%

1.2. Sonstige Untersuchungen

Bei den zehn Wochen alten Tieren kann in einem Pool, bestehend aus fünf Blutproben, ein PRRSV Feldstamm des EU-Typs nachgewiesen werden, bei den 16 Wochen alten Tieren kann das Virus jedoch nicht detektiert werden. Von den im Alter von 19 Wochen entnommenen und mittels ELISA auf Influenza A Virus untersuchten Proben sind 30% positiv und zehn Prozent als fraglich zu bewerten. Die Untersuchung der Sammelkotproben auf *B. hyodysenteriae* und *B. pilosicoli* mittels PCR im Alter von zehn, 13, 16 und 19 Wochen verläuft negativ.

2. Serologie

2.1. Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen

Insgesamt weist bei Betrachtung sämtlicher Beprobungstermine von Tag 21 bis zu Tag 124 / 140 ein gegenüber der Kontrollgruppe (69,23%) signifikant ($p=0,039$) größerer Anteil der geimpften Tiere (84,84%) an mindestens einem Beprobungszeitpunkt Antikörper gegen *L. intracellularis* auf (Tabelle 5).

Tabelle 5: Vergleich des Anteils von Tieren, die zwischen Tag 21 und Tag 124/140 an zumindest einem Zeitpunkt Antikörper gegen *L. intracellularis* aufweisen

Versuchsdurchgang 1 und 2 (Anteil von min. 1x positiven Tieren)		
Versuchstag		21-124/140
Impfung	Probenzahl	66
	Positiv	56
	Anteil	84,84%
Kontrolle	Probenzahl	65
	Positiv	45
	Anteil	69,23%
Differenz Impfung zu Kontrolle		15,25%
p-Wert		0,039

Bei separater Betrachtung der einzelnen Beprobungszeitpunkte werden zu Versuchsbeginn im Alter von 4 Wochen (Versuchstag 0) sowohl in der Impfgruppe (13,63%) als auch in der Kontrollgruppe (7,94%) bei einem Teil der Tiere Antikörper gegen *L. intracellularis* nachgewiesen. Beim nächsten Beprobungstermin an Studientag 21 (Impfzeitpunkt) erfolgt ein Abfall des Anteils positiver Proben (Impfgruppe 1,52%, Kontrollgruppe 0%). Die Zahl positiver Proben bleibt in der Impfgruppe an Tag 40 unverändert (1,52%), während in der Kontrollgruppe ein Anstieg (3,08%) zu beobachten ist. An Tag 62 weisen 15,15% (Impfung) bzw. 12,70% (Kontrolle) der Tiere Antikörper gegen *L. intracellularis* auf. Im Folgenden ist an Tag 78 ein Abfall der positiven Proben auf 10,61% (Impfung) bzw. 9,68% (Kontrolle) zu verzeichnen, am Tag 99 ein Anstieg des Anteils positiver Proben auf 32,81% in der Impfgruppe bzw. 28,33% in der Kontrollgruppe. Bei der letzten Beprobung (Tag 124 / Tag 140) steigt der Anteil positiver Tiere auf 77,77% in der Impfgruppe bzw. 74,1% in der Kontrollgruppe. Es zeigen sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen Impfgruppe und Kontrollgruppe ($p > 0,05$) (Abbildung 1).

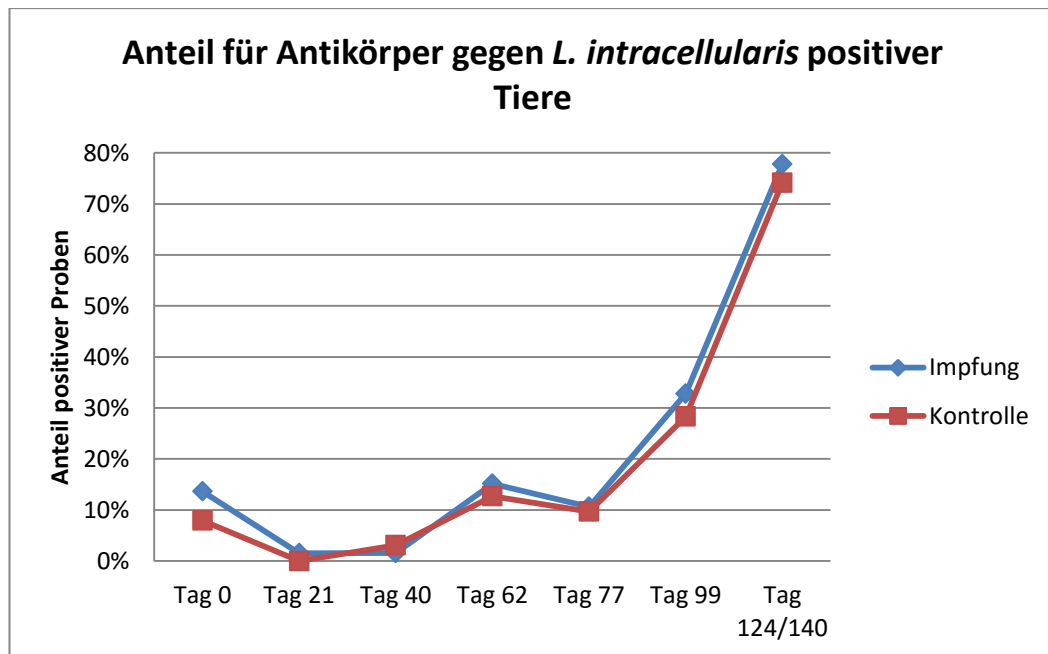


Abbildung 1: Anteil (%) für Antikörper gegen *L. intracellularis* positiver Tiere in der Impf- und Kontrollgruppe

Bei separater Betrachtung der beiden Versuchsdurchgänge zeigen sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vergleich des Anteils auf *L. intracellularis* Antikörper positiver Blutproben zwischen den Behandlungsgruppen getrennt nach Versuchsdurchgängen

Durchgang 1								
Versuchstag		0	21	40	62	78	99	124 / 140
Impfung	Probenzahl	35	36	36	36	36	34	34
	positiv	1	1	0	5	6	14	22
	Anteil	2,8%	2,8%	0,0%	13,9%	16,7%	41,2%	64,7%
Kontrolle	Probenzahl	33	34	35	35	34	33	34
	positiv	1	0	1	7	5	10	18
	Anteil	3,0%	0,0%	2,9%	20,0%	14,7%	30,3%	52,9%
	p-Wert	0,966	0,328	0,307	0,492	0,822	0,353	0,324
Durchgang 2								
Versuchstag		0	21	40	62	78	99	124
Impfung	Probenzahl	31	30	29	30	30	30	30
	positiv	8	0	1	5	1	7	27
	Anteil	25,8%	0,0%	3,4%	16,7%	3,3%	23,3%	90,0%
Kontrolle	Probenzahl	30	29	30	28	28	27	27
	positiv	4	0	1	1	1	7	25
	Anteil	13,3%	0,0%	3,3%	3,6%	3,6%	25,9%	92,6%
	p-Wert	0,221	-	0,981	0,102	0,960	0,820	0,730

2.2. Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen

Zu Versuchsbeginn (Tag 0) im Alter von vier Wochen weisen in Versuchsdurchgang 1 nur wenige Tiere (2,9%) Antikörper gegen *L. intracellularis* auf, im Gegensatz dazu weisen in Versuchsdurchgang 2 deutlich mehr Tiere Antikörper auf (19,67%). Während die Zahl positiver Proben in Versuchsdurchgang 1 an Tag 21 im Vergleich zum Versuchsbeginn auf niedrigem Niveau fast konstant bleibt (2,90% vs. 1,43%), erfolgt ein Abfallen des Anteils positiver Proben in Versuchsdurchgang 2 von 19,67% auf 0%. An Tag 40 ist nur ein geringer Teil der Proben positiv (Versuchsdurchgang 1 1,41%, Versuchsdurchgang 2 3,39%). An Tag 62 erfolgt dann ein Anstieg auf 16,90% (Versuchsdurchgang 1) bzw. 10,34% (Versuchsdurchgang 2). Die Zahl positiver Tiere bleibt bei der nächsten Beprobung an Tag 78 in Versuchsdurchgang 1 nahezu konstant (15,71%) während in Versuchsdurchgang 2 ein erneuter Abfall eintritt (3,45%). An Tag 99 erfolgt dann ein Anstieg auf 35,82% (Versuchsdurchgang 1) bzw. 24,56% (Versuchsdurchgang 2). Am letzten Beprobungstermin (Versuchstag 124 / Versuchstag 140) erfolgt in beiden Versuchsdurchgängen ein weiterer Anstieg des Anteils positiver Tiere, wobei dieser in Versuchsdurchgang 1 (58,82%) wesentlich weniger stark ausgeprägt ist als in Versuchsdurchgang 2 (91,23%), so dass sich am Ende der Studie in Versuchsdurchgang 2 ein deutlich höherer Anteil an positiven Tieren zeigt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Vergleich des Anteils für *L. intracellularis* Antikörper positiver Proben zwischen den beiden Versuchsdurchgängen

Versuchstag		0	21	40	62	78	99	124/140
Versuchsdurchgang 1	n	69	70	71	71	70	67	68
	positiv	2	1	1	12	11	24	40
	Anteil	2,90%	1,43%	1,41%	16,90%	15,71%	35,82%	58,82%
Versuchsdurchgang 2	n	61	59	59	58	58	57	57
	positiv	12	0	2	6	2	14	52
	Anteil	19,67%	0,00%	3,39%	10,34%	3,45%	24,56%	91,23%
	p-Wert	0,003	1	0,590	0,319	0,036	0,241	<0,001

3. Erregernachweise im Kot

3.1. Nachweis von *Lawsonia intracellularis* mittels PCR

3.1.1. Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen

An Studientag 0 im Alter von 4 Wochen zeigen sich keine Unterschiede hinsichtlich des Anteils von positiven Kotproben, sowohl in Versuchsdurchgang 1 als auch in Versuchsdurchgang 2 sind alle Proben positiv. An Tag 21 ist ein geringerer Teil der Proben positiv, dieser liegt in Versuchsdurchgang 1 bei ca. 78% in der Impfgruppe und 72% in der Kontrollgruppe. In Versuchsdurchgang 2 liegt die Rate an positiven Proben bei 88% in der Impfgruppe und bei 80% in der Kontrollgruppe. An Tag 40 und Tag 62 zeigen sich in Versuchsdurchgang 1 in der Impfgruppe geringfügig höhere Anteile (Tag 40=89%, Tag 62=92%) an positiven Proben gegenüber der Kontrollgruppe (Tag 40=79%, Tag 62=79%). In Versuchsdurchgang 2 ergeben sich dagegen an Tag 40 keine Unterschiede (je 67%), an Tag 62 liegt der Anteil positiver Proben in der Kontrollgruppe höher (86%) als in der Impfgruppe (75%). An Tag 78 zeigt sich sowohl in Versuchsdurchgang 1 (92%) als auch in Versuchsdurchgang 2 (100%) ein höherer Anteil positiver Tiere in den Impfgruppen gegenüber den Kontrollgruppen (75% bzw. 86%). Während sich in Versuchsdurchgang 1 an Tag 99 ein höherer Anteil an positiven Tieren in der Impfgruppe (91%) gegenüber der Kontrollgruppe zeigt (77%), verhält sich dies in Versuchsdurchgang 2 umgekehrt (Kontrolle 100%, Impfung 93%). Am letzten Beprobungstag zeigen sich in Versuchsdurchgang 1 nur geringfügige Unterschiede (95% Impfung vs. 92% Kontrolle), während in Versuchsdurchgang 2 sämtliche Proben positiv sind (Abbildung 2).

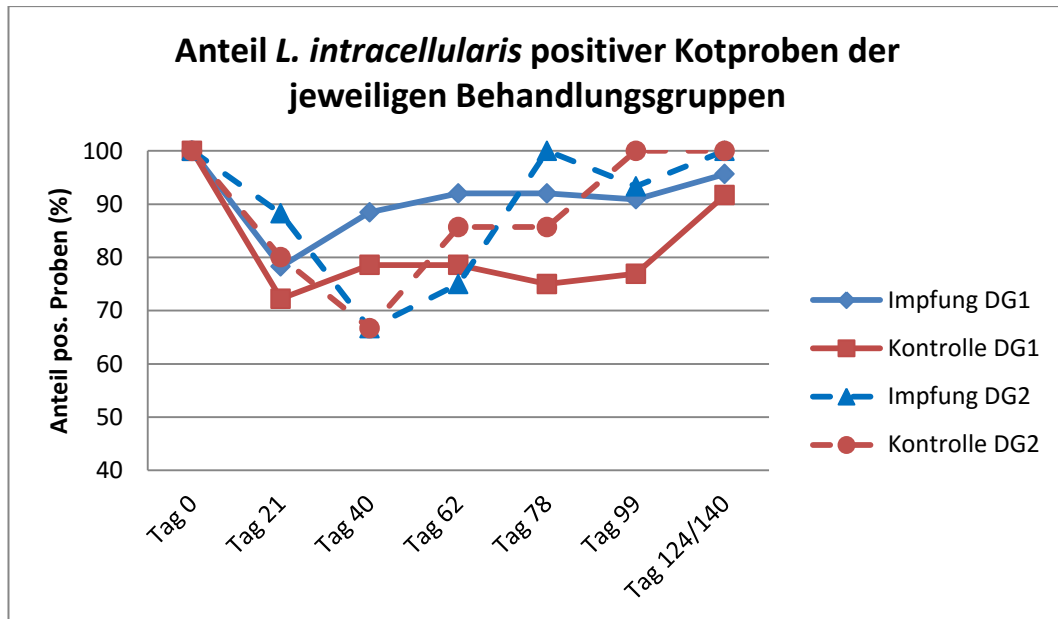


Abbildung 2: Anteil (%) *L. intracellularis* positiver Kotproben der jeweiligen Behandlungsgruppen aufgeteilt nach Durchgang (DG) 1 und 2

Bezüglich der durchschnittlichen Menge an *L. intracellularis* im Kot zeigen sich zu Beginn des Versuchs zwischen den Tieren der Impfgruppe ($3,66 \times 10^7$ Genomkopien/g Kot) und den Tieren der Kontrollgruppe ($1,34 \times 10^7$ Genomkopien/g Kot) keine signifikanten Unterschiede ($p=0,334$). Bei der darauf folgenden Beprobung an Tag 21 finden sich in der Impfgruppe durchschnittlich $1,59 \times 10^6$ Kopien, in der Kontrollgruppe $2,56 \times 10^5$ ($p=0,103$). An Tag 40 finden sich bei den geimpften Tieren $6,57 \times 10^5$ Genomkopien im Kot, in der Kontrollgruppe sind es $4,13 \times 10^5$. Der Unterschied ist nicht signifikant ($p=0,541$). Am Tag 62 finden sich im Kot der Impfgruppe durchschnittlich $4,94 \times 10^5$ Erreger und in der Kontrollgruppe $3,48 \times 10^5$ Erreger ($p=0,338$). An Tag 78 erfolgt ein leichter Anstieg der Erregermenge auf $5,58 \times 10^5$ bei den geimpften Tieren und $1,05 \times 10^6$ bei der Kontrollgruppe, wobei keine signifikanten Unterschiede bestehen ($p=0,486$). An Tag 99 steigt die Erregermenge dann weiter auf $6,87 \times 10^6$ Erreger in der Impfgruppe und $3,43 \times 10^6$ in der Kontrollgruppe ($p=0,601$). Am letzten Beprobungstermin vor der Schlachtung im Alter von 21 (23) Wochen (Versuchstag 124 / 140) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und Impfung, es erfolgt aber ein weiterer Anstieg des durchschnittlichen Erregergehalts auf $1,16 \times 10^8$ in der Impf- und auf $7,50 \times 10^7$ in der Kontrollgruppe ($p=0,715$). Es zeigen sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede in der Erregermenge.

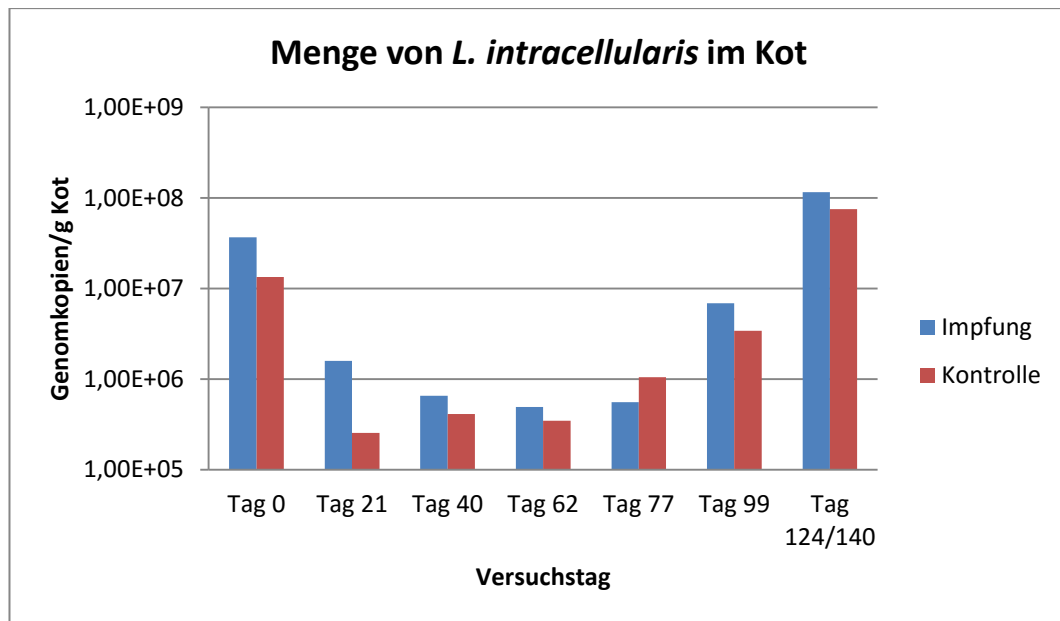


Abbildung 3: Vergleich der Menge an *L. intracellularis* zwischen den beiden Behandlungsgruppen

Bei separater Betrachtung der beiden Versuchsdurchgänge ergeben sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen der jeweiligen Impf- und Kontrollgruppe (Tabelle 8).

Durchgang 1								
Versuchstag		0	21	40	62	77	99	124/140
Impfung	Probenzahl	11	24	26	25	25	22	23
	Erregermenge	6,62E+07	2,41E+06	8,73E+05	6,77E+05	7,79E+05	7,77E+05	4,27E+07
Kontrolle	Probenzahl	8	11	14	14	12	13	12
	Erregermenge	3,00E+07	3,03E+05	6,68E+05	4,94E+05	2,07E+05	5,68E+05	1,53E+08
p-Wert		0,481	0,131	0,715	0,464	0,099	0,543	0,314
Durchgang 2								
Versuchstag		0	21	40	62	77	99	124
Impfung	Probenzahl	13	17	15	16	15	15	13
	Erregermenge	1,16E+07	4,24E+05	2,81E+05	2,09E+05	1,90E+05	1,58E+07	2,44E+08
Kontrolle	Probenzahl	13	15	15	14	14	13	14
	Erregermenge	3,22E+06	2,21E+05	1,75E+05	2,02E+05	1,77E+06	6,28E+06	8,47E+06
p-Wert		0,462	0,133	0,543	0,940	0,303	0,490	0,277

Tabelle 8: Vergleich der Menge an *L. intracellularis* zwischen den beiden Behandlungsgruppen getrennt nach Durchgängen

3.1.2. Vergleich zwischen verschiedenen quantitativen PCR Methoden

Zu Versuchsbeginn (Tag 0) zeigen sich bei den mit Methode 1 untersuchten Tieren (n=7) ausschließlich positive Ergebnisse. Aufgrund von Materialmangel können an Tag 0 nur zwei von sieben Tieren mit Methode 2 untersucht werden,

diese Proben sind beide als negativ zu bewerten. An Tag 21 sind 57% der Proben bei Methode 1 positiv (n=7), bei Methode 2 sind es 0% (n=7). An Tag 40 sind ebenfalls keine der mit Methode 2 untersuchten Proben positiv (n=6), wobei eine Probe aufgrund von Materialmangel nicht untersucht werden kann. Es sind aber 100% der untersuchten Proben bei Methode 1 positiv (n=7). An Tag 62 kann eine Probe mit beiden Methoden nicht untersucht werden, bei den verbleibenden Proben sind in Methode 1 83% positiv (n=6), bei Methode 2 sind es 0% (n=6). An Tag 78 fehlt wiederum eine Probe in beiden Gruppen, bei den verbleibenden Proben sind bei Methode 1 100% positiv (n=6), bei Methode 2 gibt es wieder keine positiven (n=6). Auch an Tag 99 kann eine Probe nicht untersucht werden, bei den verbleibenden sind in Methode 1 100% positiv (n=6), bei Methode 2 sind es 67% (n=6). Am letzten Beprobungstermin (Tag 124) sind bei Methode 1 wiederum 100% der Proben positiv (n=7), während es bei Methode 2 29% sind (n=7) (Tabelle 9).

Probennummer	Untersuchung	Versuchstag						
		0	21	40	62	78	99	124
419	Methode 1	●	●	●	□	●	□	●
	Methode 2	□	○	○	□	○	□	●
438	Methode 1	●	○	●	○	●	●	●
	Methode 2	□	○	○	○	○	○	○
458	Methode 1	●	●	●	●	□	●	●
	Methode 2	□	○	□	○	□	●	●
477	Methode 1	●	○	●	●	●	●	●
	Methode 2	□	○	○	○	○	●	○
499	Methode 1	●	○	●	●	●	●	●
	Methode 2	□	○	○	○	○	○	○
536	Methode 1	●	●	●	●	●	●	●
	Methode 2	○	○	○	○	○	●	○
576	Methode 1	●	●	●	●	●	●	●
	Methode 2	○	○	○	○	○	●	○

Tabelle 9: Vergleich der Ergebnisse beider qPCR Methoden (● = positiv, ○ = negativ, □ = nicht untersucht/kein ausreichendes Material)

Vergleicht man die Ergebnisse der qPCR (Methode 2) auf *L. intracellularis* mit den Ergebnissen der Untersuchung auf *L. intracellularis* Antikörper im Blut, so zeigt sich, dass bei einer positiven Kotprobe entweder am gleichen Termin (Tier 419) oder am darauffolgenden Beprobungstermin (Tier 458, 477, 536, 576) die entsprechende Blutprobe Antikörper gegen *L. intracellularis* aufweist (Tabelle 10).

Probennummer	Untersuchung	Versuchstag						
		0	21	40	62	78	99	124
419	Antikörper	-7,99	□	-9,70	-16,13	-5,65	82,11	83,16
	qPCR (Kot)	□	○	○	□	○	□	●
438	Antikörper	-18,34	17,49	-1,49	-24,70	-15,35	-2,93	36,15
	qPCR (Kot)	□	○	○	○	○	○	○
458	Antikörper	-2,97	-7,55	-2,12	-16,79	-2,59	-0,33	70,14
	qPCR (Kot)	□	○	□	○	□	●	●
477	Antikörper	-6,68	11,02	-1,30	3,34	5,98	16,35	68,64
	qPCR (Kot)	□	○	○	○	○	●	○
499	Antikörper	13,37	-1,23	7,46	-3,54	-12,64	-0,04	55,43
	qPCR (Kot)	□	○	○	○	○	○	○
536	Antikörper	4,81	5,87	3,91	-1,40	21,48	13,62	81,30
	qPCR (Kot)	○	○	○	○	○	●	○
576	Antikörper	-4,42	6,93	-0,62	-5,17	-7,10	9,44	76,66
	qPCR (Kot)	○	○	○	○	○	●	○

Tabelle 10: Ergebnisse der qPCR (Methode 2) (● = positiv, ○ = negativ, □ = nicht untersucht/kein Material) mit den Ergebnissen der Untersuchung auf Antikörper gegen *L. intracellularis* (PI-Wert, ab >30 positiv)

3.2. Kultureller Nachweis von *Brachyspira* spp. und *Salmonella* spp.

3.2.1. Versuchsdurchgang 1

Im Alter von vier Wochen (Versuchstag 0) werden bei zehn untersuchten Tieren kulturell keine *Brachyspira* spp. nachgewiesen. Im Alter von 15 Wochen (Tag 77) kann bei zwei von elf Tieren ein geringgradiger und bei einem Tier ein hochgradiger Gehalt an *Brachyspira innocens* nachgewiesen werden. Bei der letzten Beprobung im Alter von 21 Wochen (Tag 124) wird bei zwei von neun Tieren ein geringgradiger Gehalt an *Brachyspira innocens* und bei einem Tier ein geringgradiger Gehalt an *Brachyspira murdochii* nachgewiesen. *Salmonella* spp. werden an keinem Beprobungstermin gefunden.

3.2.2. Versuchsdurchgang 2

Im Alter von vier Wochen (Versuchstag 0) können in Versuchsdurchgang 2 kulturell bei zehn Tieren keine *Brachyspira* spp. nachgewiesen werden. Im Alter von 15 Wochen (Tag 77) kann bei drei von elf Tieren ein geringgradiger und bei einem Tier ein mittelgradiger Gehalt an *Brachyspira murdochii* detektiert werden. Bei der letzten Beprobung im Alter von 21 Wochen (Tag 124) kann bei einem von zehn Tieren ein hochgradiger Gehalt an *Brachyspira innocens*, bei einem Tier ein hochgradiger Gehalt an *Brachyspira murdochii* und bei einem weiteren Tier ein

hochgradiger Gehalt an *Brachyspira* spp., welche nicht näher klassifiziert werden können, nachgewiesen werden. Bei zwei weiteren Tieren finden sich geringgradige Konzentrationen an *Brachyspira murdochii* und bei einem Tier eine geringgradige Konzentration einer Mischkultur aus *Brachyspira murdochii* und *Brachyspira innocens*. *Salmonella* spp. können an keinem Beprobungstermin nachgewiesen werden.

4. Gewichtszunahmen

4.1. Gewichtszunahme seit Versuchsbeginn bzw. Gesamtgewichtszunahme

Zwischen den beiden Behandlungsgruppen ergeben sich hinsichtlich der Gewichtszunahme vom Versuchsbeginn (Tag 0) bis zum Tag der Impfung (Tag 21) keine signifikanten Unterschiede ($p=0,420$) bei einer Zunahme von 6,32kg in der Impfgruppe und 6,19kg in der Kontrollgruppe. Bis Tag 40 besteht ein signifikanter ($p < 0,001$) Unterschied bei der Gewichtszunahme (15,42kg vs. 14,47kg) zugunsten der Impfgruppe. Bei der Zunahme von Tag 0-77, welche 41,13kg (Impfung) bzw. 40,66kg (Kontrolle) beträgt, besteht kein signifikanter ($p=0,422$) Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen, wohingegen von Tag 0-124 eine signifikant ($p=0,040$) höhere Gewichtszunahme in der Impfgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe besteht (79,21kg vs. 77,18kg) (Tabelle 11).

Gruppe	Versuchstag	21	40	77	124
Impfung	Anzahl Tiere	331	328	326	314
	Mittelwert (kg)	6,32	15,42	41,13	79,21
	Standardabweichung	2,07	3,49	7,28	11,15
Kontrolle	Anzahl Tiere	330	328	321	297
	Mittelwert (kg)	6,19	14,47	40,66	77,18
	Standardabweichung	2,05	3,72	7,45	13,25
Abweichung Impfung zu Kontrolle (kg)		+0,13	+0,95	+0,47	+2,03
p-Wert		0,420	<0,001	0,422	0,040

Tabelle 11: Vergleich der Gewichtszunahme seit Versuchsbeginn (Tag 0) zwischen den Behandlungsgruppen

Bei einzelner Betrachtung der beiden Durchgänge ergeben sich in Versuchsdurchgang 1 von Tag 0-21 keine signifikanten Unterschiede ($p=0,564$) zwischen Impfgruppe (6,71kg) und Kontrollgruppe (6,83kg). Auch in

Versuchsdurchgang 2 zeigen sich keine signifikanten Unterschiede ($p=0,074$) hinsichtlich der Gewichtszunahme zwischen Impfgruppe (5,86kg) und Kontrolle (5,44kg). Von Tag 0-40 zeigen sich sowohl in Versuchsdurchgang 1 ($p=0,008$) als auch Versuchsdurchgang 2 ($p=0,018$) signifikante Unterschiede zugunsten der Impfgruppe. Dabei weisen die geimpften Tiere in Durchgang 1 eine Zunahme von 16,47kg gegenüber 15,42kg in der Kontrollgruppe auf. In Durchgang 2 zeigt die Impfgruppe einen Zuwachs von 14,19kg gegenüber 13,22kg bei den Kontrolltieren. Dagegen zeigen sich von Tag 0-77 in Versuchsdurchgang 1 keine signifikanten Unterschiede ($p=0,860$) zwischen Impfung (42,91kg) und Kontrolle (43,04kg). Auch in Versuchsdurchgang 2 gibt es keine signifikanten ($p=0,110$) Unterschiede zwischen geimpften Tieren (39,03kg) und Kontrolltieren (37,74kg). Bis zum letzten Wiegetermin an Tag 124 zeigt sich in Versuchsdurchgang 1 keine signifikante ($p=0,314$) Differenz zwischen Impf- (84,12kg) und Kontrollgruppe (82,88kg), dagegen besteht in Versuchsdurchgang 2 eine signifikante ($p=0,019$) Differenz zugunsten der Impfgruppe (73,78kg vs. 70,78kg) (Tabelle 12).

Versuchsdurchgang 1					
Gruppe	Versuchstag	21	40	77	124
Impfung	Anzahl Tiere	178	176	176	165
	Mittelwert (kg)	6,71	16,47	42,91	84,12
	Standardabweichung	2,11	3,31	7,47	9,93
Kontrolle	Anzahl Tiere	178	178	177	157
	Mittelwert (kg)	6,83	15,42	43,04	82,88
	Standardabweichung	1,71	3,35	6,61	12,01
Abweichung Impfung zu Kontrolle (kg)		-0,12	+1,32	-0,13	+1,24
p-Wert		0,564	0,008	0,860	0,314
Versuchsdurchgang 2					
Gruppe	Versuchstag	21	40	77	124
Impfung	Anzahl Tiere	153	152	159	149
	Mittelwert (kg)	5,86	14,19	39,03	73,78
	Standardabweichung	1,95	3,30	6,47	9,84
Kontrolle	Anzahl Tiere	152	150	144	140
	Mittelwert (kg)	5,44	13,22	37,74	70,78
	Standardabweichung	2,15	3,77	7,40	11,57
Abweichung Impfung zu Kontrolle (kg)		+0,42	+0,97	+1,29	+3,00
p-Wert		0,074	0,018	0,110	0,019

Tabelle 12: Mittelwert und Standardabweichung der Zunahmen seit Versuchsbeginn (Tag 0) zwischen den Behandlungsgruppen getrennt nach den jeweiligen Versuchsdurchgängen

4.2. Gewichtszunahme in den einzelnen Versuchsabschnitten

Hinsichtlich der Gewichtszunahmen in den einzelnen Versuchsabschnitten ergeben sich im Zeitraum von Tag 0-21 keine signifikanten Unterschiede ($p=0,420$). Von Tag 22-40 ergeben sich Unterschiede zugunsten der Impfgruppe (9,10kg vs. 8,25kg), wobei der Unterschied signifikant ist ($p<0,001$), dagegen bestehen von Tag 41-77 keine signifikanten Unterschiede zwischen geimpften (25,24kg) und Kontrolltieren (25,44kg) ($p=0,673$). Von Tag 78 bis zum Ende der Datenerhebung (Tag 124) zeigen die geimpften Tiere eine signifikant höhere Gewichtszunahme von 37,90kg im Vergleich zu 36,10kg in der Kontrollgruppe ($p=0,008$) (Tabelle 13).

Gruppe	Zeitraum(d)	0-21	22-40	41-77	78-124
Impfung	Anzahl Tiere	331	327	331	314
	Mittelwert (kg)	6,32	9,10	25,24	37,90
	Standardabweichung	2,07	2,52	6,10	7,61
Kontrolle	Anzahl Tiere	330	328	330	297
	Mittelwert (kg)	6,19	8,25	25,44	36,10
	Standardabweichung	2,05	2,54	6,37	8,95
Abweichung Impfung zu Kontrolle (kg)		+0,18	+0,85	-0,2	+1,8
p-Wert		0,420	<0,001	0,673	0,008

Tabelle 13: Vergleich der mittleren Gewichtszunahme der beiden Behandlungsgruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten

Bei separater Betrachtung der beiden Versuchsdurchgänge ergeben sich von Tag 0-21 keine signifikanten Unterschiede. Im ersten Versuchsdurchgang weist die Kontrollgruppe Zunahmen von 6,83 kg auf, die Impfgruppe Zunahmen von 6,71 kg ($p=0,564$). In Versuchsdurchgang 2 weist die Impfgruppe Zunahmen von 5,86 kg auf und die Kontrollgruppe Zunahmen von 5,44 kg. Es besteht eine Tendenz ($p=0,074$) zu höheren Zunahmen in der Impfgruppe. Von Tag 22-40 weist die Impfgruppe in Versuchsdurchgang 1 signifikant ($p<0,001$) höhere Zunahmen (9,67 kg) auf als die Kontrollgruppe (8,69 kg). Auch in Durchgang 2 zeigen die geimpften Tiere eine signifikant ($p=0,013$) höhere Zunahme von 8,44 kg gegenüber 7,73 kg. Betrachtet man Tag 41-77 in Durchgang 1 so zeigt sich ein signifikanter ($p=0,049$) Unterschied zugunsten der Kontrollgruppe (27,35 kg) gegenüber der Impfgruppe (26,14 kg). Dagegen lassen sich in Versuchsdurchgang 2 keine signifikanten ($p=0,174$) Unterschiede zwischen geimpften (24,19 kg) gegenüber Kontrolltieren (23,21 kg) nachweisen. Im letzten Versuchsabschnitt von Tag 78-124 zeigt sich in Versuchsdurchgang 1 ein Trend ($p=0,055$) zugunsten

der Impfung (40,76 kg) gegenüber der Kontrolle (39,00 kg), wohingegen in Versuchsdurchgang 2 ein signifikanter ($p=0,028$) Unterschied zwischen der Impfgruppe (34,72 kg) und der Kontrollgruppe (32,85 kg) besteht.

4.3. Vergleich zwischen den Durchgängen

Wird die Gewichtszunahme der beiden Durchgänge seit Versuchsbeginn betrachtet, so ergeben sich hinsichtlich der Gewichtszunahme an Tag 21 hochsignifikante ($p<0,001$) Unterschiede zwischen den Gruppen. Durchgang 1 weist hierbei eine deutlich höhere Gewichtszunahme von 6,77 kg gegenüber 5,65 kg in Versuchsdurchgang 2 auf. Diese Unterschiede zeigen sich auch im weiteren Versuchsverlauf, so besteht auch an Tag 40 ein hochsignifikanter ($p<0,001$) Unterschied beim Zuwachs zugunsten von Versuchsdurchgang 1 (15,99 kg vs. 13,71 kg). Auch an Tag 77 ergeben sich hochsignifikante Unterschiede: Versuchsdurchgang 1 weist eine Gewichtszunahme von 42,98 kg auf, Versuchsdurchgang 2 dagegen nur eine Zunahme von 38,40 kg ($p<0,001$). Bei der letzten Wiegung an Tag 124 zeigt sich in Versuchsdurchgang 1 eine Gewichtszunahme von 83,52 kg gegenüber dem Versuchsbeginn, wohingegen in Versuchsdurchgang 2 nur eine Gewichtszunahme von 72,33 kg zu verzeichnen ist ($p<0,001$). Im Verlauf des Versuchs vergrößern sich somit die Differenzen zwischen den Versuchsdurchgängen bei jeder weiteren Beprobung. Auch bei separater Betrachtung der einzelnen Versuchsabschnitte zeigt sich in allen Abschnitten ein hochsignifikanter Unterschied zwischen Versuchsdurchgang 1 und Versuchsdurchgang 2 ($p < 0,001$).

5. Schlachtparameter

Insgesamt können die Schlachtdaten von 505 Tieren ausgewertet werden. Legt man die Zahl von lebenden Tieren am letzten Wiegetermin zugrunde ($n=634$), entspricht dies einer Auslesequote von 79,7%. In Versuchsdurchgang 1 können die Schlachtdaten von 321 Tieren ausgewertet werden, dies entspricht einer Auslesequote von 93%. In Versuchsdurchgang 2 können 184 Tiere ausgewertet werden, entsprechend einer Auslesequote von 63%. Die im Vergleich zu Versuchsdurchgang 1 niedrigere Auslesequote lässt sich zum einen durch einen höheren Verlust von Ohrmarken im zweiten Versuchsdurchgang erklären, zudem wurden an einem Schlachtermin des Versuchsdurchgangs 2 die Tiere ohne Kenntnis des Untersuchers auf zwei unterschiedliche Schlachtgruppen verteilt,

somit konnte ein Teil der Tiere an diesem Schlachttermin nicht erfasst werden.

5.1. Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen

5.1.1. Muskelfleischanteil

Hinsichtlich des Muskelfleischanteils weisen die Tiere in der Impfgruppe leicht niedrigere Werte (59,12%) auf als die Kontrolltiere (59,48%), ohne sich jedoch signifikant zu unterscheiden ($p=0,289$) (Tabelle 14).

Behandlungsgruppe	Parameter	Durchgang		
		1	2	1 + 2
Impfung	Anzahl Tiere	162	94	256
	Mittelwert (%)	58,77	59,71	59,12
	Standardabweichung	2,719	3,248	2,953
Kontrolle	Anzahl Tiere	159	88	247
	Mittelwert (%)	58,96	60,41	59,48
	Standardabweichung	5,299	2,564	4,566
Abweichung Impfung zu Kontrolle (%)		-0,19	-0,7	-0,36
p-Wert		0,690	0,104	0,289

Tabelle 14: Vergleich des Muskelfleischanteils zwischen den Behandlungsgruppen

5.1.2. Speckmaß

Hinsichtlich des Speckmaßes besteht ein Trend ($p=0,089$) für einen höheren Wert bei den geimpften Tieren (14,22mm) gegenüber der Kontrollgruppe (13,79mm) (Tabelle 15).

Behandlungsgruppe	Parameter	Durchgang		
		1	2	1 + 2
Impfung	Anzahl Tiere	162	94	256
	Speckmaß (mm)	14,48	13,77	14,22
	Standardabweichung	2,908	3,216	3,037
Kontrolle	Anzahl Tiere	159	88	247
	Speckmaß (mm)	14,06	13,32	13,79
	Standardabweichung	2,526	2,445	2,518
Abweichung Impfung zu Kontrolle		+0,42	+0,45	+0,43
p-Wert		0,170	0,281	0,089

Tabelle 15: Vergleich des Speckmaßes zwischen den Behandlungsgruppen

5.1.3. Fleischmaß

Bei Betrachtung des Fleischmaßes zeigen sich signifikant höhere Werte ($p=0,007$)

in der Kontrollgruppe (64,24mm) gegenüber der Impfgruppe (62,87mm). Wird Versuchsdurchgang 2 allein betrachtet, so ergeben sich ebenfalls signifikante Unterschiede zugunsten der Kontrollgruppe, bei alleiniger Betrachtung von Versuchsdurchgang 1 zeigen sich jedoch keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 16).

Behandlungsgruppe	Parameter	Durchgang		
		1	2	1 + 2
Impfung	Anzahl Tiere	162	94	256
	Fleischmaß	61,16	64,10	62,87
	Standardabweichung	5,405	6,109	5,739
Kontrolle	Anzahl Tiere	159	88	247
	Fleischmaß	63,24	66,05	64,24
	Standardabweichung	5,600	5,237	5,628
Abweichung Impfung zu Kontrolle		-0,195	-1,95	-1,37
p-Wert		0,081	0,022	0,007

Tabelle 16: Vergleich des Fleischmaßes zwischen den Behandlungsgruppen

5.2. Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen

Beim Vergleich der Schlachtparameter zwischen Versuchsdurchgang 1 und 2 weist der Versuchsdurchgang 2 ein signifikant höheres Fleischmaß (65,04 mm) gegenüber dem Versuchsdurchgang 1 (62,69 mm) auf. Versuchsdurchgang 1 weist dagegen ein signifikant höheres Speckmaß (14,27 mm) als Versuchsdurchgang 2 (13,55 mm) auf. Demzufolge liegt auch der Muskelfleischanteil in Versuchsdurchgang 2 signifikant höher (60,05%) als in Versuchsdurchgang 1 (58,87%) (Tabelle 17).

Durchgang	Parameter	Muskelfleischanteil (%)	Speckmaß (mm)	Fleischmaß (mm)
1	Anzahl Tiere	321	321	321
	Mittelwert	58,87	14,27	62,69
	Standardabweichung	4,20	2,73	5,52
2	Anzahl Tiere	182	182	182
	Mittelwert	60,05	13,55	65,04
	Standardabweichung	2,95	2,87	5,77
p-Wert		<0,001	0,007	<0,001

Tabelle 17: Vergleich der Schlachtparameter zwischen Versuchsdurchgang 1 und Versuchsdurchgang 2

6. Sektionsergebnisse und Krankheitsausbruch

In Versuchsdurchgang 2 kam es in der zehnten Versuchswoche zu einem Krankheitseinbruch. Der Betriebsinhaber berichtete seinem bestandsbetreuenden Tierarzt von einer akuten respiratorischen Erkrankung, welche sich in Husten und schlechter Futteraufnahme der Tiere äußerte. Der bestandsbetreuende Tierarzt entschloss sich nach Rücksprache mit dem Versuchsleiter zu einer Behandlung des gesamten Versuchsdurchgangs 2 mit einem Antibiotikum (Trimetoprim-Sulfadiazin). Zusätzlich wurden für eine weiterführende Diagnostik insgesamt fünf Tiere zur Klinik für Schweine der Ludwig-Maximilians Universität München, Oberschleißheim verbracht und im Weiteren einer pathologisch-anatomischen Untersuchung zugeführt. Bei allen fünf Tieren zeigte sich als Hauptbefund histologisch eine interstitielle Pneumonie, zusätzlich wurde bei vier Tieren eine katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie festgestellt. Bei allen Tieren wurde aus der Lunge ein PRRSV Stamm des Typ 1 (EU) isoliert, der als Feldstamm klassifiziert werden konnte. Zusätzlich wurde bei zwei Tieren ein Influenza A Virus Subtyp H1N2 nachgewiesen. Bei einem Tier konnte bakteriologisch *Pasteurella multocida* aus der Lunge isoliert werden, bei den anderen Tieren verlief die bakteriologische Untersuchung negativ. Zudem waren bei vier von fünf Tieren die Lymphknoten vergrößert, histologisch zeigte sich bei allen Tieren eine Hyperplasie der Mediastinallymphknoten. Bei vier von fünf Tieren zeigte sich zudem eine mittel- bis hochgradige Füllung der Tarsalgelenke. Ein Tier wies einen Rektumprolaps und eine fibrinös-eitrige Peritonitis auf.

V. DISKUSSION

1. Serologie

Mittels ELISA wurden Blutproben auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *L. intracellularis* untersucht, um den Infektionsverlauf in den jeweiligen Behandlungsgruppen bzw. Durchgängen verfolgen zu können. Zu Versuchsbeginn im Alter von ca. vier Wochen (Tag 0) zeigen sich dabei bei einer geringen Zahl von Tieren Antikörper gegen *L. intracellularis*. Diese sind wahrscheinlich als von der Sau aufs Ferkel übertragene maternale Antikörper zu klassifizieren, da bis auf ein Tier aus Versuchsdurchgang 1 sämtliche Tiere, welche an Tag 0 Antikörper gegen *L. intracellularis* aufweisen, am darauffolgenden Beprobungstag (Tag 21) im Alter von sieben Wochen negativ sind. Dies steht in Übereinstimmung mit der Arbeit von GUEDES et al. (2002b), welche ein Vorkommen von maternalen Antikörpern bis zur fünften Woche beschreiben, sowie der Arbeit von WENDT et al. (2006), die ein Absinken von Antikörperspiegeln von der vierten zur sechsten Lebenswoche beschreiben. Die einzige im Alter von sieben Wochen (Tag 21) positive Probe stammt von einem bereits an Tag 0 zum Zeitpunkt des Absetzens positiven Tier und weist somit wahrscheinlich noch maternale Antikörper auf. An Tag 40 im Alter von zehn Wochen kommt es zu einem ersten Anstieg von Antikörpern bei einem zuvor negativen Tier (1,41%) in Durchgang 1 und zwei zuvor negativen Tieren in Durchgang 2 (3,39%). Da ein Antikörpernachweis ungefähr ab dem 14. Tag nach der Infektion möglich ist (KNITTEL et al., 1998; GUEDES et al., 2002a) und nach 21 Tagen der Großteil der Tiere Antikörper gebildet hat (KNITTEL et al., 1998; GUEDES et al., 2002a), erfolgt die Infektion der ersten Tiere vermutlich im Alter von ungefähr sieben Wochen (Tag 19-26). Somit ist davon auszugehen, dass zum Zeitpunkt der Impfstoffapplikation an Studientag 21 im Alter von sieben Wochen bereits erste Tiere mit *L. intracellularis* infiziert sind. Der Anstieg der positiven Proben bis Tag 62 ist vermutlich durch eine weitere Verbreitung der Feldinfektion bedingt und nicht durch die Impfung, da NATHUES und GROSSE BEILAGE (2008) in einem Feldversuch in zwei von drei geimpften Versuchsgruppen 21 Tage nach der Impfung keine Antikörper nachweisen, ebenso wie KROLL et al. (2004), welche für vier bzw. fünf Wochen nach Impfung keine Antikörper im Blut nachweisen können. Am nächsten

Beprobungstermin an Studientag 77 im Alter von 15 Wochen erfolgt ein geringer Abfall des Anteils positiver Tiere, welcher dann von einem deutlichen Anstieg an Tag 99 (Alter 18 Wochen) gefolgt wird. Diese Beobachtung stimmt mit einer Querschnittstudie von WENDT et al. (2006) in acht deutschen Betrieben überein, auch hier findet im Alter von 16 Wochen ein starker Anstieg des Anteils positiver Proben statt. Ebenso ermitteln STEINHEUER et al. (2007) in einer epidemiologischen Studie in deutschen Betrieben einen deutlichen Anstieg der Anzahl positiver Proben in diesem Zeitraum von 24% (13 Wochen alt) auf 44% (18 Wochen alt). Es scheint somit, dass es in dieser Phase zu Mastbeginn regelmäßig zu einer starken Verbreitung des Erregers mit anschließender Serokonversion kommt. Zum letzten Beprobungszeitpunkt Tag 124 / 140 (21 bzw. 23 Wochen alt) haben über 70% der beprobten Tiere in der Impf- und Kontrollgruppe Antikörper gegen *L. intracellularis* entwickelt. Auch diese Daten decken sich mit den Ergebnissen von STEINHEUER et al. (2007), welche bei 24 Wochen alten Schweinen 63% positive Proben finden, sowie mit WENDT et al. (2006), welche in ihrer Querschnittsstudie im Alter von 22 Wochen >70% an positiven Proben finden und zudem nachweisen, dass bei den Mastschweinen über >50kg mehr als 85% der Betriebe in Deutschland positiv sind. Zu allen Beprobungszeitpunkten von Tag 0 (Absetzen) bis Tag 124 / 140 der letzten Beprobung vor der Schlachtung treten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Anteils positiver Blutproben zwischen den geimpften und den Kontrolltieren auf. Auch bei einzelner Betrachtung der aufeinanderfolgenden Durchgänge finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe. Betrachtet man sämtliche beprobten Tiere von Tag 21 nach dem Verschwinden des Großteils maternaler Antikörper bis zur finalen Beprobung (Tag 124 / Tag 140), so ist ein signifikant größerer Anteil der geimpften Tiere zu mindestens einem Beprobungszeitpunkt positiv. Diese Unterschiede könnten durch Impfstoff bedingte Antikörperbildung oder eine verstärkte Antikörperbildung nach Feldinfektion bei den geimpften Tieren verursacht sein. So finden GUEDES und GEBHART (2003) bei Tieren 35 Tage nach Impfung Antikörper (IgG), welche auch bis zu 91 Tage nach Impfung nachgewiesen werden können. Andererseits bleiben in Studien von KROLL et al. (2004) und NOGUEIRA et al. (2013) Tiere vier bis fünf Wochen nach Impfung serologisch negativ. Danach sind aufgrund des Versuchsendes (NOGUEIRA et al., 2013) oder der erfolgten Challenge (KROLL et al., 2004) keine Aussagen über eine eventuell

impfstoffbedingt erfolgte Antikörperbildung mehr möglich. Da KROLL et al. (2004) beschreiben, dass geimpfte Tiere trotz des Fehlens einer Serokonversion einen Schutz vor einer Erkrankung ausbilden, scheint eine Antikörperbestimmung im Blut zur Bestimmung eines Impferfolges sowieso zweifelhaft.

2. Erregernachweis im Kot

2.1. Infektionsverlauf

Hinsichtlich der mittels quantitativer PCR auf *L. intracellularis* untersuchten Kotproben weisen bereits zu Versuchsbeginn beim Absetzen (Tag 0) sowohl in Durchgang 1 als auch in Durchgang 2 100% der Proben ein positives Ergebnis auf. Auch im Alter von sieben Wochen (Tag 21) zeigen sich jeweils >80% (Versuchsdurchgang 2) bzw. >70% (Versuchsdurchgang 1) an positiven Proben. Vergleicht man diese Ergebnisse mit der Arbeit von BRANDT (2008), welcher ebenfalls die Ausscheidung von *L. intracellularis* in einem subklinisch infizierten Bestand verfolgt, zeigen sich unterschiedliche Ergebnisse. Im Alter von sieben Wochen und acht Wochen scheiden in der Studie von BRANDT (2008) nur zehn bis 20% der untersuchten Tiergruppe den Erreger aus. Diese Diskrepanz setzt sich auch über die weiteren Beprobungstermine in der Arbeit fort, zu keinem Zeitpunkt scheiden mehr als 25% der untersuchten Tiere gleichzeitig den Erreger aus. Dies scheint umso mehr bedeutsam zu sein, da hinsichtlich der Serologie auch bei BRANDT (2008) ein maximaler Anteil von zeitgleich positiven Tieren von >70% ermittelt wird, dieser Maximalwert wird zwar deutlich früher erreicht (14 Wochen) als in der vorliegenden Studie, dennoch scheint die maximale Zahl an serologisch positiven und somit wahrscheinlich infizierten Tieren durchaus mit der vorliegenden Studie vergleichbar. Auch STEGE et al. (2004) untersuchen in fünf dänischen Herden in zweiwöchigen Abständen Kot- und Blutproben vom Absetzen bis zur Schlachtung. Hierbei zeigt sich, dass obwohl in vier von fünf Herden ein sehr hoher Teil (72% bis 95%) der Tiere mindestens einmal in der PCR positiv ist und gleichzeitig bei drei von fünf Herden bei 100% der Tiere Antikörper gegen *L. intracellularis* nachweisbar sind und somit von einem sehr hohen Ausbreitungsgrad der Infektion in den Beständen ausgegangen werden kann, die meisten Tiere (37%) nur einmal in der PCR positiv sind und die maximale Ausscheidungsdauer bei sechs Wochen (drei Beprobungsterminen) liegt. Auch epidemiologische Daten von WENTING (2012), welche 596

Kottupfer von Saugferkeln aus 60 Betrieben untersuchen und dabei nur bei weniger als 1% in der PCR *L. intracellularis* nachweisen können, lassen eine Nachweisrate von 100% bei den Saugferkeln unwahrscheinlich erscheinen. In Infektionsversuchen weisen KNITTEL et al. (1998) und GUEDES et al. (2002a) drei Wochen nach der Infektion zudem bei >85% der Tiere im Serum Antikörper nach, nach 28 Tagen zeigen sich bei MARSTELLER et al. (2001) und GUEDES et al. (2002a) bei >90% der Tiere Antikörper. Zudem zeigen PARADIS et al. (2012), dass selbst bei einer niedrigen Infektionsdosis von $3,2 \times 10^4$ Erregern, welche deutlich unter der an Tag 0 ($>10^7$ Genomkopien) nachgewiesenen Menge liegt, nach 21 bis 22 Tagen bei 37,5% der Tiere im Blut Antikörper nachgewiesen werden. Anhand dieser Resultate sollten bei einer tatsächlichen Infektionsrate von 100% der beprobten Tiere an Tag 0 bzw. von >70% an Tag 21 und >60% an Tag 40 bei den folgenden Beprobungsterminen an Studientag 40, 62 und 78 ein hoher Anteil an seropositiven Tieren auftreten. Dies gilt umso mehr, da bei sämtlichen Tieren, bei denen Kotproben entnommen wurden, auch Blut entnommen wurde. Tatsächlich zeigen sich in beiden Durchgängen an Tag 40 weniger als 5% positive Blutproben und an Tag 62 bzw. 78 weniger als 20% positive Proben. Zusammengefasst lässt die vorliegende Literatur sowie das Ergebnis der serologischen Untersuchungen somit Zweifel an der Richtigkeit der Ergebnisse der qPCR aufkommen. Aus diesem Grunde wurde eine Stichprobe von 49 Proben mittels einer zweiten qPCR Methode (Methode 2) nachuntersucht. Hierbei zeigen sich erhebliche Abweichungen zwischen den beiden Methoden. Insbesondere fällt auf, dass bei Methode 2 an Tag 99 erste positive Proben auftreten, wohingegen bei den Vergleichsproben, welche mittels Methode 1 untersucht werden, bereits an Tag 0 100% der Proben, an Tag 21 57% und an Tag 40 wieder 100% der Proben positiv sind. Die Ergebnisse der zweiten Methode erscheinen demnach trotz der kleinen Stichprobe als valide, da es anders als bei Methode 1 keine in der qPCR positiven Tiere gibt, welche nicht spätestens am nächsten Beprobungstermin eine Antikörperbildung zeigen und somit eine gute Übereinstimmung zwischen Serologie und Erregernachweis besteht.

2.2. Ausgeschiedene Erregermenge

Wie bereits beschrieben erscheint es fraglich, ob die Ergebnisse der qPCR (Methode 1) hinsichtlich des Anteils positiver Proben valide sind, dennoch scheint es im Verlauf des Versuchs zu einem Anstieg der durchschnittlichen

Erregermenge zu kommen. So ist ein deutlicher Anstieg der Erregermenge von Tag 77 (Impfgruppe $5,58 \times 10^5$ Genomkopien, Kontrolle $1,05 \times 10^6$ Genomkopien) auf Tag 99 (Impfgruppe $6,87 \times 10^6$, Kontrolle $3,43 \times 10^6$) und ein weiterer Anstieg von Tag 99 auf Tag 124 (Impfgruppe $1,16 \times 10^8$ Genomkopien, Kontrolle $7,50 \times 10^7$ Genomkopien) zu sehen. Da es im gleichen Zeitraum von Tag 77 bis Tag 124 zu signifikanten Unterschieden hinsichtlich der Tageszunahmen zwischen Kontrollgruppe und Impfgruppe kommt, erscheint ein Zusammenhang möglich. COLLINS und BARCHIA (2014) beschreiben in diesem Zusammenhang, dass es bei einem Anstieg der *L. intracellularis* Menge im Kot von 10^6 zu 10^7 Kopien gleichzeitig zu einer moderaten Reduktion der Tageszunahmen (15g) kommt, bei einem Anstieg von 10^7 auf 10^8 Kopien kommt es sogar zu einer hochgradigen Reduktion (141g). Zu keinem Zeitpunkt zeigt sich ein signifikanter Unterschied bezüglich der Erregermenge zwischen Impf- und Kontrollgruppe. Da die Impfung zu einer deutlichen Reduktion von makroskopischen und mikroskopischen Läsionen führt (KROLL et al., 2004) und PEDERSEN et al. (2012) zudem zeigen, dass Tiere, welche makroskopische Läsionen einer PPE aufweisen, signifikant höhere Erregermengen ausscheiden, wäre eine Reduktion der ausgeschiedenen Erregermenge bei den geimpften Tieren nicht unwahrscheinlich gewesen. Aufgrund der möglicherweise fehlerhaften Ergebnisse lassen sich hier jedoch keine verlässlichen Aussagen treffen.

3. Gewichtszunahme

3.1. Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen

Das Fehlen von signifikanten Gewichtsunterschieden vor der Impfung von Tag 0 (Absetzen) bis Tag 21 (Impfzeitpunkt) ist zu erwarten, da die Tiere randomisiert, aufgeteilt und in identische Flatdeckabteile aufgestellt wurden. Die sich nun zeigenden signifikanten Unterschiede zwischen dem Tag der Impfung (Tag 21) und Tag 40 zugunsten der Impfgruppe bzw. von Versuchsbeginn bis zu Tag 40 im Alter von zehn Wochen sind vermutlich nicht auf den Impfstoff zurückzuführen. Der Hersteller gibt eine Zeit bis zum Immunitätsaufbau des Impfstoffs von drei Wochen an. Da in den ersten drei Wochen nach der Impfung im Blut weder Antikörper (GUEDES & GEBHART, 2003; KROLL et al., 2004; RIBER et al., 2015) noch spezifische Interferon- γ produzierende Zellen (GUEDES & GEBHART, 2003; RIBER et al., 2015) nachweisbar sind, kann die Frage der

Ausbildung einer Teilimmunität schon vor Ablauf der angegebenen drei Wochen ohne entsprechende Challengeversuche nicht bewertet werden. Es muss somit davon ausgegangen werden, dass ein Schutz erst nach Ablauf der vollen drei Wochen ausgebildet ist, wie KROLL et al. (2004) in einem Challengeversuch zeigen, auch wenn sich nicht komplett ausschließen lässt, dass der positive Effekt bereits durch den Impfstoff bedingt ist. Zu beachten ist auch, dass am folgenden Beprobungstermin (Studientag 62) <20% der untersuchten Tiere serologisch positiv sind, was auf eine niedrige Infektionsrate bis zum Studientag 40 (ungefähr zehn Wochen alt) schließen lässt. Da die Tiere in zwei unterschiedlichen Abteilen aufgestellt sind, welche zwar mit einem identischen Aufstellungs- und Fütterungssystem ausgestattet sind, aber dennoch unterschiedliche Lufträume darstellen, kann ein Einfluss von Umweltfaktoren auf das Wachstum der Tiere in dieser Phase nicht komplett ausgeschlossen werden. Diese strikte räumliche Trennung war nötig, um eine Übertragung des Lebendimpfstoffs zwischen den Behandlungsgruppen zu vermeiden. Da jedoch von Versuchsbeginn (Tag 0) bis Studientag 77 keine signifikanten Unterschiede bei der Gewichtszunahme zu beobachten sind, erscheint der eventuelle Einfluss der Haltungsumgebung für die Bewertung der Impfstoffeffektivität gering, da anhand der Serologieergebnisse angenommen werden kann, dass ein großer Teil der Tiere erst in der letzten Versuchsphase zwischen Tag 77 und Tag 124 infiziert wird. In der letzten Phase von Tag 77 bis zum letzten Beprobungszeitpunkt zeigt sich auch eine signifikant bessere Gewichtszunahme in der geimpften Gruppe. Da beim letzten Beprobungstermin eine hohe Rate von serologisch positiven Tieren von >70% ermittelt wird und dies zudem gegenüber der Beprobung an Tag 78 einen Anstieg von >40% darstellt, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Unterschiede auf die sich stark im Bestand ausbreitende *L. intracellularis* Infektion zurückzuführen sind. Dies steht in Übereinstimmung mit zahlreichen Feldstudien, welche eine Verbesserung der Gewichtszunahme bzw. der Tageszunahmen in für *L. intracellularis* positiven Beständen bei geimpften Tieren gegenüber ungeimpften Kontrolltieren zeigen (ALMOND & BILKEI, 2006; McORIST & SMITS 2007; CASPARI et al., 2009; DEITMER et al., 2011; WEIBEL et al., 2012). Bei einzelner Betrachtung des ersten Durchgangs zeigt sich von Tag 40 bis 77 eine signifikant höhere Gewichtszunahme in der Kontrollgruppe gegenüber der Impfgruppe. Die Ursachen dafür sind unbekannt, ein Einfluss des Impfstoffs erscheint jedoch unwahrscheinlich, da dieser Effekt in Versuchsdurchgang 2 nicht

aufgetreten ist. Auch ein Einfluss der Aufstallung erscheint aus diesem Grund sehr unwahrscheinlich, da Durchgang 2 im identischen Stall in denselben Buchten aufgestallt wurde.

3.2. Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen

Über die Gründe für die signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Gewichtszuwachses zwischen den beiden Versuchsdurchgängen 1 und 2 zu sämtlichen Beprobungszeitpunkten kann keine abschließende Bewertung vorgenommen werden. Hierfür wäre eine genaue Erfassung etwaiger Veränderungen anderer Einflussfaktoren wie Umwelt, Stallklima, Fütterung, Außentemperaturen und sonstiger Infektionskrankheiten nötig gewesen, welche jedoch im Versuchsaufbau nicht vorgesehen war. Da die Tiere aus Kontroll- und Impfgruppe der jeweiligen Versuchsdurchgänge zeitgleich in denselben Stallungen und zumeist auch in denselben Abteilen untergebracht waren, scheinen diese Unterschiede für die Versuchsfragestellung nicht relevant. Da die Differenz zwischen den Durchgängen im Verlauf der Studie größer wird, erscheint es jedoch wahrscheinlich, dass der Krankheitseinbruch, welcher in der zehnten Woche des Versuchs in Versuchsdurchgang 2 erfolgt, einen Einfluss auf das Wachstum der Tiere hat. So sind für das bei der Sektion erkrankter Tiere nachgewiesene Influenza A Virus Inappetenz und Anorexie als mögliche Symptome beschrieben (GROSSE BEILAGE et al., 2013). Zudem beschreibt eine Vergleichsstudie von DONOVAN (2005) einen negativen Einfluss einer Influenza A Infektion auf Leistungsparameter im Vergleich zu einer unter identischen Haltungsbedingungen gehaltenen Vergleichsgruppe. Auch für das PRRS Virus, welches in sämtlichen der pathomorphologisch untersuchten Tiere nachgewiesen wurde, ist eine Reduktion der Tageszunahmen beschrieben (OPRIESSNIG et al., 2008). Ein weiterer Aspekt, welcher möglicherweise zu den sich zeigenden Unterschieden beigetragen hat, könnte die in Versuchsdurchgang 2 gegen Ende des Versuchs stärker ausgeprägte Infektion mit *L. intracellularis* sein. Beim letzten Beprobungstermin an Tag 124 zeigen in Durchgang 2 mehr als 90% der Tiere Antikörper gegen *L. intracellularis*, dagegen sind in Durchgang 1 weniger als 60% an Tag 124 seropositiv.

4. Schlachtparameter

4.1. Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen

4.1.1. Speckmaß

Hinsichtlich des Speckmaßes zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen geimpften Tieren sowie Kontrolltieren. In einem Infektionsversuch von COLLINS et al. (2010) zwischen mit *L. intracellularis* infizierten Tieren und nicht infizierten Kontrolltieren werden ebenfalls keine Unterschiede hinsichtlich der Rückenfettdicke festgestellt, wohingegen McORIST und SMITS (2007) eine geringere Dicke des Rückenfetts bei geimpften gegenüber ungeimpften Tieren beschreiben. Auch in Bezug auf eine vermutete PCV2 Infektion zeigt eine Studie von VENEGAS-VARGAS et al. (2011), dass eine Impfung gegen PCV2 keine Auswirkungen auf die Rückenfettdicke hat, obwohl die Tageszunahmen im Vergleich zur ungeimpften Kontrollgruppe signifikant unterschiedlich sind und somit eine PCV2 Infektion angenommen werden muss.

4.1.2. Fleischmaß

Die ungeimpfte Kontrollgruppe weist beim Fleischmaß einen signifikant höheren Wert auf als die geimpften Tiere. Bei separater Betrachtung der beiden Versuchsdurchgänge ist dieser Unterschied nur beim zweiten Versuchsdurchgang signifikant. Diese Beobachtung steht im Kontrast zu Auswertungen von COLLINS et al. (2010), welche einen negativen Einfluss einer *L. intracellularis* Infektion auf das Muskelwachstum zeigen und somit eher einen positiven Einfluss der Impfung erwarten lassen würden. Da in Versuchsdurchgang 2 eine deutlich niedrigere Auslesequote bei den Ohrmarken erreicht werden konnte und an einzelnen Schlachterminen sehr hohe Verluste auftraten, kann es auch nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Faktor das Ergebnis beeinflusst.

4.1.3. Muskelfleischanteil

Beim Muskelfleischanteil zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen. Der Magerfleischanteil wird nach einer gesetzlich festgelegten Formel (BGBL, 1990) aus Speckmaß und Fleischmaß berechnet. Somit ist wiederum der von COLLINS et al. (2010) beschriebene negative Effekt einer *L. intracellularis* Infektion auf das Muskelwachstum anzuführen, genau wie die von McORIST und SMITS (2007) beschriebene geringere Rückenfettdicke

von gegen *L. intracellularis* geimpften Tieren gegenüber nicht geimpften Tieren. Diese Effekte könnten einen Einfluss auf den Muskelfleischanteil haben, dies ist jedoch in dieser Studie nicht nachweisbar.

4.2. Vergleich zwischen den Versuchsdurchgängen

Hinsichtlich der Schlachtparameter zeigen die Tiere aus Versuchsdurchgang 2 gegenüber den Tieren aus Versuchsdurchgang 1 ein signifikant höheres durchschnittliches Fleischmaß sowie ein signifikant niedrigeres Speckmaß und daraus folgend einen höheren Muskelfleischanteil. ROTH (2014) beschreibt als Einflussfaktoren auf die Körperzusammensetzung von Schweinen die Ernährung sowie das unterschiedliche genetische Fleischbildungsvermögen einzelner Rassen. Tiere mit einer begrenzten Fütterung haben eine längere Mastdauer und einen höheren Muskelfleischanteil. Da in Versuchsdurchgang 2 der Zuwachs in sämtlichen Versuchsabschnitten unter dem in Versuchsdurchgang 1 liegt, scheint es somit denkbar, dass dies ein Grund für den höheren Muskelfleischanteil ist. Auch scheint ein genetischer Einfluss denkbar, da sich der Betrieb während des Versuchszeitraums in einem laufenden Genetikwechsel bzgl. der Sauen befand. Es wurden jedoch weder mögliche Unterschiede in der Fütterung noch bei anderen Managementfaktoren zwischen den beiden Versuchsdurchgängen erfasst, noch wurde der Genetikwechsel genau dokumentiert. Aufgrund der Fragestellung und des Versuchsdesigns (wurfweise Randomisierung, gleiche Fütterung der Behandlungsgruppen) war diese Erfassung nicht notwendig. Somit kann in der Frage der Ursache des signifikanten Unterschieds zwischen beiden Durchgängen ein Zusammenhang mit der aufgetretenen Erkrankung oder auch der Genetik nur gemutmaßt aber nachträglich nicht abschließend beantwortet werden.

VI. FAZIT

Der Impfstoff wurde wie laut der Fragestellung vorgesehen zu einem Zeitpunkt eingesetzt, an dem mittels serologischer Bestimmung des Infektionszeitpunkts festgestellt werden konnte, dass vor dem Aufbau der Immunität nach der Impfung bereits ein Teil der Tiere mit dem Erreger infiziert war. Bei Betrachtung des gesamten Versuchszeitraums und vor allem in der Phase mit der höchsten Rate an *L. intracellularis* infizierten Tieren zeigen sich bei der Gewichtszunahme signifikante Vorteile der geimpften Tiere gegenüber der Kontrollgruppe. Dennoch ist dieser Vorteil im Vergleich zu anderen Feldstudien, auch angesichts des erheblichen Infektionsdrucks, eher gering ausgeprägt. Ein Vergleich der Futterverwertung zwischen geimpften und Kontrolltieren war in der vorliegenden Studie nicht möglich. Da sich in anderen Studien hier aber erhebliche Vorteile zugunsten der geimpften Tiere zeigen, sollte dieser Parameter in weiteren Studien einbezogen werden. Ebenso konnte mit dem vorliegenden Versuchsdesign die Frage nicht beantwortet werden, ob eine frühere Impfung zu noch größeren Vorteilen hinsichtlich der Gewichtszunahme für die geimpften Tiere geführt hätte, was anhand der vorliegenden Literatur möglich erscheint. Da diese Studie zeigt, dass eine Impfung auch dann Vorteile bringt, wenn ein Teil der Tiere vor dem Immunitätsaufbau infiziert wird, sollten in folgenden Studien unterschiedliche Impfzeitpunkte bei unterschiedlich hohem Anteil infizierter Tiere verglichen werden, um in der Praxis eine Abwägung zwischen den Vorteilen des rechtzeitigen Aufbaus des Impfschutzes in der gesamten Tiergruppe und den möglichen produktionstechnischen Vorteilen der einzelnen Applikationszeitpunkte bzw. Applikationsarten zu ermöglichen. Bezüglich der ausgeschiedenen Erregermenge im Kot in den verschiedenen Altersgruppen können keine verlässlichen Aussagen gemacht werden, da die vorliegenden Ergebnisse anhand der durchgeführten Nachuntersuchung und des Zeitpunkts der jeweiligen Serokonversion nicht plausibel erscheinen. In Hinsicht auf die Schlachtparameter zeigen sich nur beim Fleischmaß signifikante Unterschiede zugunsten der Kontrollgruppe, diese sind nur schwer erklärbar. Da es nur sehr wenig Literatur zu dieser speziellen Fragestellung gibt, erscheint auch hier eine Wiederholung ratsam um die vorliegenden Ergebnisse zu bestätigen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Studie war es zu prüfen, ob die Impfung gegen *L. intracellularis* mit Enterisol® Ileitis auch dann noch einen positiven Effekt auf Leistungsparameter, hier Gewichtszunahme, erzielt, wenn der Impfstoff zu einem Zeitpunkt eingesetzt wird, bei dem bereits eine Infektion eines Teils der Tiergruppe erfolgt, bevor die Immunität ausgebildet ist. Zudem sollte geklärt werden, ob die unter den vorliegenden Bedingungen geimpften Tiere einen höheren Muskelfleischanteil, ein höheres Fleischmaß und ein niedrigeres Speckmaß aufweisen als ungeimpfte Tiere. Zudem sollte detailliert der Verlauf der *L. intracellularis* Infektion von geimpften und nichtgeimpften Tieren verfolgt werden, insbesondere die Höhe der Erregerausscheidung zu unterschiedlichen Zeitpunkten.

Es wurden zwei Durchgänge mit insgesamt 660 Tieren in die Studie eingeschlossen. Der Einschluss erfolgte im Alter von ungefähr vier Wochen (Absetzen, Studientag 0). Die Tiere wurden auf zwei Behandlungsgruppen (Impfung, Kontrolle) randomisiert aufgeteilt und mit einer elektronischen Ohrmarke individuell markiert. Es erfolgten dann in regelmäßigen Abständen Wiegungen sowie die Entnahme von Blut und Kotproben bis zum letzten Beprobungstermin im Alter von 21 Wochen (Studientag 124 / 140). Die entnommenen Blutproben wurden mit einem ELISA auf Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht, die entnommenen Kotproben mit einer quantitativen PCR auf die Menge an *L. intracellularis* im Kot. Mit Hilfe der elektronischen Ohrmarken konnte den Tieren im Folgenden am Schlachthof die Schlachtnummer zugeordnet werden und somit eine individuelle Erfassung von Muskelfleischanteil, Speckmaß und Fleischmaß vorgenommen werden.

Hinsichtlich der Gewichtszunahme zeigen sich bei Betrachtung des gesamten Versuchszeitraums von Studientag 0 (Alter vier Wochen) bis Tag 124 (Alter 21 Wochen) signifikante Unterschiede zugunsten der Impfgruppe (79,21 kg vs. 77,18 kg). Bei separater Betrachtung der einzelnen Versuchsabschnitte zeigen sich von Tag 22-40 signifikante Unterschiede zugunsten der Impfgruppe ebenso von Tag 78-124, nicht jedoch von Tag 41-77. Bei Betrachtung des Anteils von Blutproben, die an zumindest einem Zeitpunkt im Verlauf der Studie positiv sind, zeigen sich

signifikante Unterschiede zwischen Impfgruppe (84,84%) und der Kontrolle (69,23%). Bei separater Betrachtung der einzelnen Beprobungszeitpunkte zeigen sich an Tag 0 bei einer geringen Zahl von Tieren (Impfung 13,63%, Kontrolle 7,94%) Antikörper gegen *L. intracellularis* im Blut. Nachdem an Tag 21 ein Absinken des Anteils positiver Proben erfolgt (Impfung 1,52%, Kontrolle 0%), welcher an Tag 40 (1,54%, Kontrolle 3,08%) nur leicht steigt, erfolgt an Tag 62 ein erneuter leichter Anstieg auf 15,15% in der Impfgruppe und 12,70% in der Kontrollgruppe. Nach einem leichten Absinken an Tag 77 erfolgt dann ein erneuter Anstieg des Anteils positiver Proben an Tag 99 und schließlich wird an Tag 124 / 140 der höchste Anteil an positiven Proben erreicht (Impfung 77,77% vs. Kontrolle 74,13%). Zu keinem Zeitpunkt unterscheiden sich die Gruppen signifikant. In Bezug auf den Anteil positiver Kotproben sind bereits an Studientag 0 alle Proben in beiden Durchgängen positiv. Im weiteren Verlauf zeigt sich an sämtlichen Beprobungsterminen ein Anteil positiver Proben von mehr als 65%, an Tag 124 / 140 liegt der Anteil bei mehr als 90%. Die durchschnittliche Menge an ausgeschiedenen Erregern unterscheidet sich zu keinem Beprobungszeitpunkt signifikant zwischen Impfgruppe und Kontrollgruppe. In Bezug auf die Schlachtparameter zeigen sich beim Vergleich der Behandlungsgruppen lediglich in Bezug auf das Fleischmaß signifikante Unterschiede zugunsten der Kontrollgruppe. Allerdings zeigen sich bei Fleischmaß, Speckmaß und Muskelfleischanteil signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsdurchgängen.

Wie vorgesehen wurde der Impfstoff in der Studie zu einem Zeitpunkt eingesetzt, bei dem ein Teil der Tiere infiziert wurde, bevor diese nach der Impfung eine Immunität ausbilden konnten. Über den ganzen Versuchszeitraum zeigen sich signifikante Vorteile hinsichtlich der Tageszunahmen ebenso in der Phase mit der höchsten Rate an infizierten Tieren, im Vergleich zu anderen Studien ist der Vorteil jedoch eher gering ausgeprägt. In Bezug auf die Schlachtparameter zeigen sich beim Fleischmaß signifikante Unterschiede zugunsten der Kontrollgruppe, welche nur sehr schwer erklärbar sind. Hinsichtlich der Erregerausscheidung lassen sich keine Schlussfolgerungen ziehen, da die vorliegenden Ergebnisse der serologischen Untersuchungen sowie der mittels einer anderen qPCR nachuntersuchten Stichprobe Zweifel an der Richtigkeit der Ergebnisse aufkommen lassen.

VIII. SUMMARY

The aim of this trial was to investigate if a vaccination with Enterisol® Ileitis has a positive influence on performance indicators, in this study weight gain, even when a part of the animal group was infected before the immunity against *L. intracellularis* is developed. In addition the question should be answered if the vaccinated animals have a higher percentage of lean meat and lower amount of back fat then the unvaccinated. Furthermore the progression of a *L. intracellularis* infection in vaccinated and unvaccinated animals should be examined, especially the amount of bacteria shed at different times.

Two batches of animals containing in total 660 pigs were included in the study. The starting point of the study was at the age of roughly four weeks (weaning, day 0). The animals were separated into two treatment groups and marked individually with an electronic ear tag. The animals were weighed periodically and blood and faecal samples were collected until the final sampling date at the age of 21 weeks (day 124 / 140). The blood samples were examined by ELISA for antibodies against *L. intracellularis*. The fecal samples were tested with a quantitative PCR to determine the amount of *L. intracellularis* in the sample. Because of the electronic ear tags each animal could be assigned individually to the number printed on the back of the pigs in the slaughterhouse. So it was possible to attribute the percentage of lean meat and the thickness of the backfat to every single pig.

Regarding the weight gain considering the whole trial from day 0 (age 4 weeks) to day 124 (age 21 weeks) there was a significant difference in favor of the vaccinated animals (79.21 kg vs. 77.18 kg). When analyzing the weight gain in the different phases of the trial there is a significant difference in favor of the vaccinated group from day 22 to day 40 and from day 78 to day 124 but not for day 41 to 77. Comparing the amount of blood samples which were positive at least one sampling point there is a significantly higher amount of positives in the vaccinated animals in comparison to the control group (69.23%). When looking at different sampling times very few animals are showing antibodies at day 0 (vaccinated 13.63%, control 7.94%). This rate becomes even lower at day 21 (vaccinated 1.52%, control 0%.) There is a slight increase on day 40 (vaccinated

1.54%, control 3.08%) which proceeds on day 62 (15.15% vaccinated, 12.70% control). After a slight decrease on day 77 and another increase on day 99 the highest amount of positive samples is reached on day 124 / 140 (vaccinated 77.77% vs. control 74.13%). There is no significant difference at any of the sampling points. Regarding fecal samples 100% are positive on day 0 in both batches. On each of the following sampling points at least 65% of the samples are positive for *L. intracellularis*. On day 124 / 140 more than 90% of the samples are positive. There is no significant difference regarding the average amount of *L. intracellularis* shed at any of the sampling points. Regarding the carcass quality there is a significant difference regarding the loin muscle thickness in favor of the control group. Regarding loin muscle thickness, back fat thickness and percentage of lean meat there are significant differences between the two batches.

As envisaged a part of the animal group was infected at a point of time when they had not yet developed an immunity after vaccination. When looking at the whole trial period there were significant advantages regarding the weight gain in the vaccinated animals but in other studies this advantage is even greater. If looking at the carcass quality the significant difference regarding the loin muscle thickness in favor of the control group seems very difficult to explain. When comparing the results of the quantitative PCR to the second PCR method and the serological results the results of the first qPCR seem to be questionable.

IX. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Epidemiologische Daten zum Vorkommen von L. intracellularis in unterschiedlichen Altersgruppen (STEINHEUER et al., 2007).....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 2: Antibiotikaempfindlichkeit von L. intracellularis Isolaten (McORIST et al. 1995, YEH et al. 2011).....</i>	<i>45</i>
<i>Tabelle 3: Zusammensetzung des qPCR Mastermix.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 4: Ergebnisse der Voruntersuchung auf Antikörper gegen L. intracellularis.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 5: Vergleich des Anteils von Tieren, die zwischen Tag 21 und Tag 124/140 an zumindest einem Zeitpunkt Antikörper gegen L. intracellularis aufweisen.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 6: Vergleich des Anteils auf L. intracellularis Antikörper positiver Blutproben zwischen den Behandlungsgruppen getrennt nach Versuchsdurchgängen.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 7: Vergleich des Anteils für L. intracellularis Antikörper positiver Proben zwischen den beiden Versuchsdurchgängen.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 8: Vergleich der Menge an L. intracellularis zwischen den beiden Behandlungsgruppen getrennt nach Durchgängen.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 9: Vergleich der Ergebnisse beider qPCR Methoden (● = positiv, ○ = negativ, □ = nicht untersucht/kein ausreichendes Material).....</i>	<i>62</i>
<i>Tabelle 10: Ergebnisse der qPCR (Methode 2) (● = positiv, ○ = negativ, □ = nicht untersucht/kein Material) mit den Ergebnissen der Untersuchung auf Antikörper gegen L. intracellularis (PI-Wert, ab >30 positiv).....</i>	<i>63</i>
<i>Tabelle 11: Vergleich der Gewichtszunahme seit Versuchsbeginn (Tag 0) zwischen den Behandlungsgruppen.....</i>	<i>64</i>
<i>Tabelle 12: Mittelwert und Standardabweichung der Zunahmen seit Versuchsbeginn (Tag 0) zwischen den Behandlungsgruppen getrennt nach den jeweiligen Versuchsdurchgängen.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 13: Vergleich der mittleren Gewichtszunahme der beiden Behandlungsgruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabelle 14: Vergleich des Muskelfleischanteils zwischen den Behandlungsgruppen.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabelle 15: Vergleich des Speckmaßes zwischen den Behandlungsgruppen.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabelle 16: Vergleich des Fleischmaßes zwischen den Behandlungsgruppen.....</i>	<i>69</i>

<i>Tabelle 17: Vergleich der Schlachtparameter zwischen Versuchsdurchgang 1 und Versuchsdurchgang 2.....</i>	<i>69</i>
--	-----------

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Anteil (%) für Antikörper gegen L. intracellularis positiver Tiere in der Impf- und Kontrollgruppe</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 2: Anteil (%) L. intracellularis positiver Kotproben der jeweiligen Behandlungsgruppen aufgeteilt nach Durchgang (DG) 1 und 2</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 3: Vergleich der Menge an L. intracellularis zwischen den beiden Behandlungsgruppen</i>	<i>61</i>

XI. LITERATURVERZEICHNIS

Almond PK, Bilkei G. Effects of oral vaccination against *Lawsonia intracellularis* on growing-finishing pig's performance in a pig production unit with endemic porcine proliferative enteropathy (PPE). Dtsch Tierarztl Wochenschr 2006; 113: 232-5.

Armbruster GA, Deen J, Gebhart CJ, Pelger GA, Keffaber KK, Parks CW. Review of *Lawsonia intracellularis* seroprevalence screening in the United States, June 2003 to July 2006. Proc. American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting Orlando FL, USA 2007: 231-3.

Bak H, Rathkjen PH. Reduced use of antimicrobials after vaccination of pigs against porcine proliferative enteropathy in a Danish SPF herd. Acta Vet Scand 2009; 51: 1.

BGBL (1990) Bekanntmachung der Neufassung der Verordnung über gesetzliche Handelsklassen für Schweinehälften. 1809-12.

Biester HE, Schwarte LH. Intestinal Adenoma in Swine. Am J Pathol 1931; 7: 175-85.

Boesen HT, Jensen TK, Schmidt AS, Jensen BB, Jensen SM, Moller K. The influence of diet on *Lawsonia intracellularis* colonization in pigs upon experimental challenge. Vet Microbiol 2004; 103: 35-45.

Bona B, Bilkei G. The effect of outdoor production on the seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in growing-finishing pigs in a large pig production unit infected with endemic porcine proliferative enteropathy. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2003; 110: 73-5.

Boutrup TS, Boesen HT, Boye M, Agerholm JS, Jensen TK. Early pathogenesis in porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. J Comp Pathol 2010; 143: 101-9.

Boye M, Jensen TK, Moller K, Leser TD, Jorsal SE. Specific detection of *Lawsonia intracellularis* in porcine proliferative enteropathy inferred from fluorescent rRNA in situ hybridization. *Vet Pathol* 1998; 35: 153-6.

Bradford JR, Winkelman NL, Moreira FP, Elfring GD. Evaluation of lincomycin in drinking water for treatment of induced porcine proliferative enteropathy using a swine challenge model. *Vet Ther* 2004; 5: 239-50.

Brandt D Untersuchungen zum subklinischen Verlauf einer *Lawsonia intracellularis*-Infektion bei Schweinen. In: Dissertation med vet, Hannover 2008.

Caspari K, Kümmerlen D, Voets H, Eichin E, Zeeh F, Zimmermann W. Feldstudie zum Einsatz von Enterisol® Ileitis in einem Schweinebetrieb in der Schweiz. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2009; 151: 31-2.

Chang K, Kurtz HJ, Ward GE, Gebhart CJ. Immunofluorescent demonstration of *Campylobacter hyointestinalis* and *Campylobacter sputorum* subsp *mucosalis* in swine intestines with lesions of proliferative enteritis. *Am J Vet Res* 1984; 45: 703-10.

Chang WL, Wu CF, Wu Y, Kao YM, Pan MJ. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in swine herds in Taiwan. *Vet Rec* 1997; 141: 103-4.

Chouet S, Prieto C, Mieli L, Veenhuizen MF, McOrist S. Patterns of exposure to *Lawsonia intracellularis* infection on European pig farms. *Vet Rec* 2003; 152: 14-7.

Collins A, Love RJ, Pozo J, Smith SH, McOrist S. Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Swine Health and Production* 2000; 8: 211-5.

Collins AM, Love RJ. Re-challenge of pigs following recovery from proliferative enteropathy. *Vet Microbiol* 2007; 120: 381-6.

Collins AM, Fell S, van Straaten J, Bolsius N. Reduced muscle growth in pigs sub-clinically affected with proliferative enteropathy. Proc. 21st International Pig Veterinary Society Congress Vancouver, Canada 2010: 234.

Collins AM, Barchia IM. The critical threshold of *Lawsonia intracellularis* in pig faeces that causes reduced average daily weight gains in experimentally challenged pigs. Vet Microbiol 2014; 168: 455-8.

Cooper DM, Swanson DL, Gebhart CJ. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. Vet Microbiol 1997a; 54: 47-62.

Cooper DM, Swanson DL, Barns SM, Gebhart CJ. Comparison of the 16S ribosomal DNA sequences from the intracellular agents of proliferative enteritis in a hamster, deer and ostrich with the sequence of a porcine isolate of *Lawsonia intracellularis*. Int J Syst Bacteriol 1997b; 47: 635-9.

Corzo CA, Friendship R, Dewey C, Blackwell T. Comparison of 2 serologic tests for the diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Can Vet J 2005; 46: 433-5.

Deitmer R, Klien K, Adam M. Effekte des Ausstiegs aus der Ileitisimpfung auf Leistungsparameter sowie Antibiotikaverbrauch. Der praktische Tierarzt 2011; 92: 510-5.

Donovan TS. The role of influenza on growing pig performance. Proc. Allen D. Leman Swine Conference, St.Paul MN, USA 2005: 97-8.

Drolet R, Larochelle D, Gebhart CJ. Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (ileal symbiont *intracellularis*) in white-tailed deer. J Vet Diagn Invest 1996; 8: 250-3.

Drozd M, Kassem, II, Gebreyes W, Rajashekara G. A quantitative polymerase

chain reaction assay for detection and quantification of *Lawsonia intracellularis*. J Vet Diagn Invest 2010; 22: 265-9.

Elder RO, Duhamel GE, Mathiesen MR, Erickson ED, Gebhart CJ, Oberst RD. Multiplex polymerase chain reaction for simultaneous detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, and *salmonellae* in porcine intestinal specimens. J Vet Diagn Invest 1997; 9: 281-6.

Gebhart CJ, Lin GF, McOrist SM, Lawson GHK, Murtaugh MP. Cloned DNA probes specific for the intracellular *Campylobacter*-like organism of porcine proliferative enteritis. J Clin Microbiol 1991; 29: 1011-5.

Gebhart CJ, Barns SM, McOrist S, Lin GF, Lawson GHK. Ileal symbiont *intracellularis*, an obligate intracellular bacterium of porcine intestines showing a relationship to *Desulfovibrio* species. Int J Syst Bacteriol 1993; 43: 533-8.

Gebhart CJ, McOrist S, Lawson GHK, Collins JE, Ward GE. Specific in situ hybridization of the intracellular organism of porcine proliferative enteropathy. Vet Pathol 1994; 31: 462-7.

Grosse Beilage E, Nathues H, Grummer B, Hartung J, Kamphues J, Kietzmann M, Rohde J, Spindler B, Weissenböck H. Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand (Band 1). Grosse Beilage E, Wendt M, eds. Stuttgart: Eugen Ulmer KG 2013: 200-70.

Guedes RMC, Gebhart CJ, Winkelman NL, Mackie-Nuss RA. A comparative study of an indirect fluorescent antibody test and an immunoperoxidase monolayer assay for the diagnosis of porcine proliferative enteropathy. J Vet Diagn Invest 2002a; 14: 420-3.

Guedes RMC, Gebhart CJ, Armbruster GA, Roggow BD. Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. Can J Vet Res 2002b; 66: 258-63.

Guedes RMC, Gebhart CJ, Winkelman NL, Mackie-Nuss RA, Marsteller TA, Deen J. Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Can J Vet Res 2002c; 66: 99-107.

Guedes RMC, Gebhart CJ. Onset and duration of fecal shedding, cell-mediated and humoral immune responses in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. Vet Microbiol 2003; 91: 135-45.

Guedes RMC, Gebhart CJ. Evidence of cell-mediated immune response and specific local mucosal immunoglobulin (Ig) A production against *Lawsonia intracellularis* in experimentally infected swine. Can J Vet Res 2010; 74: 97-101.

Herbst W, Hertrampf B, Schmitt T, Weiss R, Baljer G. Diagnostik von *L.intracellularis* mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) bei Schweinen mit und ohne Diarrhoe und anderen Tierarten. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2003; 110: 361-4.

Holyoake PK, Cutler RS, Caple IW. Prevalence of proliferative enteritis on pig farms in Australia. Aust Vet J 1994a; 71: 418-22.

Holyoake PK, Cutler RS, Caple IW. A diagnostic dilemma: detecting proliferative enteritis in pigs at slaughter. Aust Vet J 1994b; 71: 308-9.

Holyoake PK, Cutler RS, Caple IW, Monckton RP. Enzyme-linked immunosorbent assay for measuring ileal symbiont *intracellularis*-specific immunoglobulin G response in sera of pigs. J Clin Microbiol 1994c; 32: 1980-5.

Holyoake PK, Cutler RS. Outbreaks of proliferative haemorrhagic enteropathy on two pig farms. Aust Vet J 1995; 72: 253-6.

Holyoake PK, Jones GF, Davies PR, Foss DL, Murtaugh MP. Application of a polymerase chain reaction assay for detection of proliferative enteritis-affected

swine herds. J Vet Diagn Invest 1996; 8: 181-5.

Holyoake PK, Emery D, Gonsalves J, Donahoo M, Collins A. Prevalence of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in pig herds in Australia. Aust Vet J 2010; 88: 186-8.

Hotchkiss CE, Shames B, Perkins SE, Fox JG. Proliferative enteropathy of rabbits: the intracellular *Campylobacter*-like organism is closely related to *Lawsonia intracellularis*. Lab Anim Sci 1996; 46: 623-7.

Huerta B, Arenas A, Carrasco L, Maldonado A, Tarradas C, Carbonero A, Perea A. Comparison of diagnostic techniques for porcine proliferative enteropathy (*Lawsonia intracellularis* infection). J Comp Pathol 2003; 129: 179-85.

Jasni S, McOrist S, Lawson GHK. Reproduction of proliferative enteritis in hamsters with a pure culture of porcine ileal symbiont *intracellularis*. Vet Microbiol 1994; 41: 1-9.

Jensen TK, Moller K, Lindecrona R, Jorsal SE. Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. Res Vet Sci 2000; 68: 23-6.

Jensen TK, Boesen HT, Vigre H, Boye M. Detection of *Lawsonia intracellularis* in formalin-fixed porcine intestinal tissue samples: comparison of immunofluorescence and in-situ hybridization, and evaluation of the effects of controlled autolysis. J Comp Pathol 2010; 142: 1-8.

Joens LA, Nibbelink S, Glock RD. Induction of gross and microscopic lesions of porcine proliferative enteritis by *Lawsonia intracellularis*. Am J Vet Res 1997; 58: 1125-31.

Jones GF, Ward GE, Gebhart CJ, Murtaugh MP, Collins JE. Use of a DNA probe to detect the intracellular organism of proliferative enteritis in swine feces. Am J

Vet Res 1993a; 54: 1585-90.

Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, Lin G, Gebhart CJ. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1993b; 31: 2611-5.

Jones GF, Davies PR, Rose R, Ward GE, Murtaugh MP. Comparison of techniques for diagnosis of proliferative enteritis of swine. Am J Vet Res 1993c; 54: 1980-5.

Keller C, Ohlinger VF, Nordengran A, Merza M. A blocking ELISA for the detection of antibodies against *Lawsonia intracellularis*. Proc. 18th International Pig Veterinary Society congress Hamburg, Germany 2004: 293.

Kim O, Kim B, Chae C. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in selected pig herds in Korea as determined by PCR. Vet Rec 1998; 143: 587-9.

Klein EC, Gebhart CJ, Duhamel GE. Fatal outbreaks of proliferative enteritis caused by *Lawsonia intracellularis* in young colony-raised rhesus macaques. J Med Primatol 1999; 28: 11-8.

Knittel JP, Roof M, Schwartz KJ, Jordan DM, Harris DL, McOrist S. Diagnosis of Porcine Proliferative Enteritis. Compend Cont Educ Pract Vet 1997; 19: 26-9.

Knittel JP, Jordan DM, Schwartz KJ, Janke BH, Roof MB, McOrist S, Harris DL. Evaluation of antemortem polymerase chain reaction and serologic methods for detection of *Lawsonia intracellularis*-exposed pigs. Am J Vet Res 1998; 59: 722-6.

Kroll JJ, Roof MB, McOrist S. Evaluation of protective immunity in pigs following oral administration of an avirulent live vaccine of *Lawsonia intracellularis*. Am J Vet Res 2004; 65: 559-65.

Kroll JJ, Eichmeyer MA, Schaeffer ML, McOrist S, Harris DL, Roof MB. Lipopolysaccharide-based enzyme-linked immunosorbent assay for experimental use in detection of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in pigs. Clin Diagn Lab Immunol 2005; 12: 693-9.

Lawson GH, McOrist S, Rowland AC, McCartney E, Roberts L. Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies: implications for aetiology and epidemiology. Vet Rec 1988; 122: 554-7.

Lawson GH, McOrist S, Jasni S, Mackie RA. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance in vitro. J Clin Microbiol 1993; 31: 1136-42.

Lee SW, Kim TJ, Park SY, Song CS, Chang HK, Yeh JK, Park HI, Lee JB. Prevalence of porcine proliferative enteropathy and its control with tylosin in Korea. J Vet Sci 2001; 2: 209-12.

Lindecrona RH, Jensen TK, Andersen PH, Moller K. Application of a 5' nuclease assay for detection of *Lawsonia intracellularis* in fecal samples from pigs. J Clin Microbiol 2002; 40: 984-7.

Lomax LG, Glock RD. Naturally occurring porcine proliferative enteritis: pathologic and bacteriologic findings. Am J Vet Res 1982; 43: 1608-14.

MacIntyre N, Smith DG, Shaw DJ, Thomson JR, Rhind SM. Immunopathogenesis of experimentally induced proliferative enteropathy in pigs. Vet Pathol 2003; 40: 421-32.

Mapother ME, Joens LA, Glock RD. Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. Vet Rec 1987; 121: 533-6.

Marsteller T, Winkelmann N, Gebhart C, Armbruster G, Weldon W, Muller PR, Weatherford PJ, Symanowski J. Efficacy of intramuscular tylosin for the

treatment and control of porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *Vet Ther* 2001; 2: 51-60.

McCormick BM, Hasse D, Monckton RP. Detection of ileal symbiont *intracellularis* in porcine faecal samples by polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 1995; 47: 387-93.

McOrist S, Boid R, Lawson GH, McConnell I. Monoclonal antibodies to intracellular campylobacter-like organisms of the porcine proliferative enteropathies. *Vet Rec* 1987; 121: 421-2.

McOrist S, Boid R, Lawson GH. Antigenic analysis of *Campylobacter* species and an intracellular *Campylobacter*-like organism associated with porcine proliferative enteropathies. *Infect Immun* 1989a; 57: 957-62.

McOrist S, Lawson GH, Rowland AC, MacIntyre N. Early lesions of proliferative enteritis in pigs and hamsters. *Vet Pathol* 1989b; 26: 260-4.

McOrist S, MacIntyre N, Stokes CR, Lawson GH. Immunocytological responses in porcine proliferative enteropathies. *Infect Immun* 1992; 60: 4184-91.

McOrist S, Jasni S, Mackie RA, MacIntyre N, Neef N, Lawson GH. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont *intracellularis*. *Infect Immun* 1993; 61: 4286-92.

McOrist S, Gebhart CJ, Lawson GH. Polymerase chain reaction for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Vet Microbiol* 1994a; 41: 205-12.

McOrist S, Mackie RA, Neef N, Aitken I, Lawson GH. Synergism of ileal symbiont *intracellularis* and gut bacteria in the reproduction of porcine proliferative enteropathy. *Vet Rec* 1994b; 134: 331-2.

McOrist S, Mackie RA, Lawson GH. Antimicrobial susceptibility of ileal

symbiont intracellularis isolated from pigs with proliferative enteropathy. J Clin Microbiol 1995a; 33: 1314-7.

McOrist S, Jasni S, Mackie RA, Berschneider HM, Rowland AC, Lawson GH. Entry of the bacterium ileal symbiont intracellularis into cultured enterocytes and its subsequent release. Res Vet Sci 1995b; 59: 255-60.

McOrist S, Gebhart CJ, Boid R, Barns SM. Characterization of Lawsonia intracellularis gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. Int J Syst Bacteriol 1995c; 45: 820-5.

McOrist S, Smith SH, Shearn MF, Carr MM, Miller DJ. Treatment and prevention of porcine proliferative enteropathy with oral tiamulin. Vet Rec 1996a; 139: 615-8.

McOrist S, Roberts L, Jasni S, Rowland AC, Lawson GH, Gebhart CJ, Bosworth B. Developed and resolving lesions in porcine proliferative enteropathy: possible pathogenetic mechanisms. J Comp Pathol 1996b; 115: 35-45.

McOrist S, Smith SH, Green LE. Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. Vet Rec 1997a; 140: 579-81.

McOrist S, Morgan J, Veenhuizen MF, Lawrence K, Kroger HW. Oral administration of tylosin phosphate for treatment and prevention of proliferative enteropathy in pigs. Am J Vet Res 1997b; 58: 136-9.

McOrist S, Mackie RA, Lawson GH, Smith DG. In-vitro interactions of Lawsonia intracellularis with cultured enterocytes. Vet Microbiol 1997c; 54: 385-92.

McOrist S, Smith SH, Klein T. Monitored control programme for proliferative enteropathy on British pig farms. Vet Rec 1999a; 144: 202-4.

McOrist S, Shearn MF, Morgan J. Control of porcine proliferative enteropathy by

oral administration of chlortetracycline. Vet Rec 1999b; 144: 48-9.

McOrist S, Muller Wager A, Kratzer D, Sjosten CG. Therapeutic efficacy of water-soluble lincomycin-spectinomycin powder against porcine proliferative enteropathy in a European field study. Vet Rec 2000; 146: 61-5.

McOrist S, Gebhart CJ, Bosworth BT. Evaluation of porcine ileum models of enterocyte infection by *Lawsonia intracellularis*. Can J Vet Res 2006; 70: 155-9.

McOrist S, Smits RJ. Field evaluation of an oral attenuated *Lawsonia intracellularis* vaccine for porcine proliferative enteropathy (ileitis). Vet Rec 2007; 161: 26-8.

McOrist S, Blunt R, Gebhardt C. Pig-associated *Lawsonia intracellularis* in various on-farm dipterous fly stages. J Swine Health Prod. 2011; 19: 277-83.

McOrist S, Gebhart CJ. Proliferative Enteropathy. In: Diseases of swine 10th Edition. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, eds. West Sussex United Kingdom: John Wiley & Sons Inc. 2012: 811-20.

Murakata K, Sato A, Yoshiya M, Kim S, Watarai M, Omata Y, Furuoka H. Infection of different strains of mice with *Lawsonia intracellularis* derived from rabbit or porcine proliferative enteropathy. J Comp Pathol 2008; 139: 8-15.

Nathues H, grosse Beilage E. Diagnosis of *Lawsonia intracellularis* infection in pigs after vaccination or antimicrobial treatment. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2008; 115: 404-9.

Nathues H, Holthaus K, grosse Beilage E. Quantification of *Lawsonia intracellularis* in porcine faeces by real-time PCR. J Appl Microbiol 2009; 107: 2009-16.

Nogueira MG, Collins AM, Donahoo M, Emery D. Immunological responses to

vaccination following experimental *Lawsonia intracellularis* virulent challenge in pigs. *Vet Microbiol* 2013; 164: 131-8.

Opriessnig T, Madson DM, Prickett JR, Kuhar D, Lunney JK, Elsener J, Halbur PG. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Vet Microbiol* 2008; 131: 103-14.

Opriessnig T, Madson DM, Roof M, Layton SM, Ramamoorthy S, Meng XJ, Halbur PG. Experimental reproduction of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated enteritis in pigs infected with PCV2 alone or concurrently with *Lawsonia intracellularis* or *Salmonella typhimurium*. *J Comp Pathol* 2011; 145: 261-70.

Papatsiros VG, Tzika ED, Papaioannou DS, Kyriakis SC, Tassis PD, Kyriakis CS. Effect of *Origanum vulgare* and *Allium sativum* extracts for the control of proliferative enteropathy in weaning pigs. *Pol J Vet Sci* 2009; 12: 407-14.

Paradis MA, Gebhart CJ, Toole D, Vessie G, Winkelman NL, Bauer SA, Wilson JB, McClure CA. Subclinical ileitis: Diagnostic and performance parameters in a multi-dose mucosal homogenate challenge model. *Swine Health and Production* 2012; 20: 137-41.

Peace TA, Brock KV, Stills HF, Jr. Comparative analysis of the 16S rRNA gene sequence of the putative agent of proliferative ileitis of hamsters. *Int J Syst Bacteriol* 1994; 44: 832-5.

Pedersen KS, Stahl M, Guedes RM, Angen O, Nielsen JP, Jensen TK. Association between faecal load of *Lawsonia intracellularis* and pathological findings of proliferative enteropathy in pigs with diarrhoea. *BMC Vet Res* 2012; 8: 198.

Riber U, Heegaard PM, Cordes H, Stahl M, Jensen TK, Jungersen G. Vaccination of pigs with attenuated *Lawsonia intracellularis* induced acute phase protein responses and primed cell-mediated immunity without reduction in bacterial

shedding after challenge. *Vaccine* 2015; 33: 156-62.

Richter B, Ladinig A, Nedorost N, Weissenböck H. A TaqMan quantitative polymerase chain reaction assay for the detection of *Lawsonia intracellularis* in fecal and tissue samples from pigs. *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 70-3.

Roth FX. Schweinefütterung. In: Tierernährung. Stangl GI, Schwarz FJ, Roth FX, Südekum K-H, Eder K, eds. Frankfurt am Main: DLG-Verlag GmbH 2014: 243-356.

Rowland AC, Rowntree PG. A haemorrhagic bowel syndrome associated with intestinal adenomatosis in the pig. *Vet Rec* 1972; 91: 235-41.

Rowland AC, Lawson GH, Maxwell A. Intestinal adenomatosis in the pig: occurrence of a bacterium in affected cells. *Nature* 1973; 243: 417.

Rowland AC, Lawson GH. Intestinal adenomatosis in the pig: immunofluorescent and electron microscopic studies. *Res Vet Sci* 1974; 17: 323-30.

Rowland AC, Lawson GH. Porcine intestinal adenomatosis: a possible relationship with necrotic enteritis, regional ileitis and proliferative haemorrhagic enteropathy. *Vet Rec* 1975a; 97: 178-81.

Rowland AC, Lawson GH. Intestinal adenomatosis in the pig: a possible relationship with a haemorrhagic enteropathy. *Res Vet Sci* 1975b; 18: 263-8.

Schmitz-Esser S, Haferkamp I, Knab S, Penz T, Ast M, Kohl C, Wagner M, Horn M. *Lawsonia intracellularis* contains a gene encoding a functional rickettsia-like ATP/ADP translocase for host exploitation. *J Bacteriol* 2008; 190: 5746-52.

Schwartz K, Knittel J, Walter D, Roof M, Anderson M. Effect of oral tiamulin on the development of porcine proliferative enteropathy in a pure-culture challenge model. *Journal of Swine Health and Production* 1999; 7: 5-11.

Smith SH, McOrist S. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res Vet Sci* 1997; 62: 6-10.

Smith SH, McOrist S, Green LE. Questionnaire survey of proliferative enteropathy on British pig farms. *Vet Rec* 1998; 142: 690-3.

Stege H, Jensen TK, Moller K, Baekbo P, Jorsal SE. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med* 2000; 46: 279-92.

Stege H, Jensen TK, Moller K, Baekbo P, Jorsal SE. Risk factors for intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med* 2001; 50: 153-64.

Stege H, Jensen TK, Moller K, Vestergaard K, Baekbo P, Jorsal SE. Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. *Vet Microbiol* 2004; 104: 197-206.

Steinheuer R, Bubikat A, Hardge T, Keller C. Feldstudie zur Verbreitung und zu Einflussfaktoren auf die Seroprävalenz von *Lawsonia intracellularis*. *Tierärztl. Umsch* 2007; 62: 261-8.

Suh DK, Lym SK, Bae YC, Lee KW, Choi WP, Song JC. Detection of *Lawsonia intracellularis* in diagnostic specimens by one-step PCR. *J Vet Sci* 2000; 1: 33-7.

Thomson JR, Smith WJ, Murray BP. Investigations into field cases of porcine colitis with particular reference to infection with *Serpulina pilosicoli*. *Vet Rec* 1998; 142: 235-9.

Vannucci FA, Foster DN, Gebhart CJ. Comparative transcriptional analysis of homologous pathogenic and non-pathogenic *Lawsonia intracellularis* isolates in infected porcine cells. *PLoS One* 2012; 7: e46708.

Venegas-Vargas MC, Bates R, Morrison R, Villani D, Straw B. Effect of porcine circovirus type 2 vaccine on postweaning performance and carcass composition.

Journal of Swine Health and Production 2011; 19: 233-7.

Ward GE, Winkelman N. Diagnosing, treating, and controlling proliferative enteritis in swine. Veterinary Medicine 1990; 85: 312, 4-8

Watarai M, Yoshiya M, Sato A, Furuoka H. Cultivation and characterization of *Lawsonia intracellularis* isolated from rabbit and pig. J Vet Med Sci 2008; 70: 731-3.

Wattanaphansak S, Asawakarn T, Gebhart CJ, Deen J. Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of porcine proliferative enteropathy. J Vet Diagn Invest 2008; 20: 170-7.

Weibel H, Sydler T, Brugnera E, Voets H, Grosse Liesner B, Sidler X. Efficacy of simultaneous vaccination with Enterisol® Ileitis and Ingelvac® CircoFLEX™ in a Swiss breeding farm. Schweiz Arch Tierheilkd 2012; 154: 445-50.

Wendt M, Schulze Johann R, Verspohl J. Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Lawsonia intracellularis*-Infektionen in Schweinebeständen. Tierärztl Prax 2006; 34 (G): 230-9.

Wendt M, Epe C, Grummer B, Kamphues J, Kietzmann M, Rohde J, Weissenböck H. Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen des Verdauungstraktes in Schweinebeständen. In: Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand Band 1. Grosse Beilage E, Wendt M, eds. Stuttgart, Germany: Eugen Ulmer KG 2013: 271-349.

Wenting S Untersuchungen zur Prävalenz der *Lawsonia intracellularis*-Infektion bei Absetzferkeln. In: Dissertation med vet, Hannover 2012.

Whitney MH, Shurson GC, Guedes RC. Effect of including distillers dried grains with solubles in the diet, with or without antimicrobial regimen, on the ability of growing pigs to resist a *Lawsonia intracellularis* challenge. J Anim Sci 2006; 84:

1870-9.

Williams NM, Harrison LR, Gebhart CJ. Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 254-6.

Wilson TM, Chang K, Gebhart CJ, Kurtz HJ, Drake TR, Lintner V. Porcine proliferative enteritis: serological, microbiological and pathological studies from three field epizootics. *Can J Vet Res* 1986; 50: 217-20.

Winkelman NL, Crane JP, Elfring GD, Kratzer DD, Meeuwse DM, Dame KJ, Buckham SL, Gebhart CJ. Lincomycin-medicated feed for the control of porcine proliferative enteropathy (ileitis) in swine. *Journal of Swine Health and Production* 2002; 10: 107-11.

Yeh JY, Lee JH, Yeh HR, Kim A, Lee JY, Hwang JM, Kang BK, Kim JM, Choi IS, Lee JB. Antimicrobial susceptibility testing of two *Lawsonia intracellularis* isolates associated with proliferative hemorrhagic enteropathy and porcine intestinal adenomatosis in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 4451-3.

Zhang P, Gebhart CJ, Burden D, Duhamel GE. Improved diagnosis of porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* using polymerase chain reaction-enzyme-linked oligosorbent assay (PCR-ELOSA). *Mol Cell Probes* 2000; 14: 101-8.

XII. DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die exzellente fachliche Betreuung, ebenso Frau Dr. Susanne Zöls für die exzellente Mitbetreuung der Doktorarbeit.

Den sonstigen Mitarbeitern der Schweineklinik der LMU München für die Unterstützung bei der Durchführung der Studie.

Der Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, insbesondere Herrn Dr. Bernd gr. Liesner und Frau Dr. Ricarda Deitmer für die finanzielle und fachliche Unterstützung der Studie.

Dem beteiligten landwirtschaftlichen Betrieb für die Teilnahme an der Studie, sowie der betreuenden Tierarztpraxis für die Unterstützung.

Dem beteiligten Schlachthof für die unkomplizierte Ermöglichung der Datenerfassung.

Meiner Frau Nina und meiner Familie für jegliche Geduld und Unterstützung.